

UNIVERSIDADE FEDERAL DO PARANÁ

EDNA WISNIESKI

**ADAPTAÇÃO DE UM MÉTODO PARA DETERMINAÇÃO DE
MARCADORES ORGÂNICOS E APLICAÇÃO EM SEDIMENTOS
MARINHOS ANTÁRTICOS.**

**PONTAL DO PARANÁ
2012**

EDNA WISNIESKI

ADAPTAÇÃO DE UM MÉTODO PARA DETERMINAÇÃO DE MARCADORES
ORGÂNICOS E APLICAÇÃO EM SEDIMENTOS MARINHOS ANTÁRTICOS.

Dissertação apresentada ao curso de Pós-Graduação em Sistemas Costeiros e Oceânicos, Centro de Estudos do Mar, Setor de Ciências da Terra, Universidade Federal do Paraná, como requisito parcial para obtenção do grau de Mestre em Sistemas Costeiros e Oceânicos.

PONTAL DO PARANÁ
2012

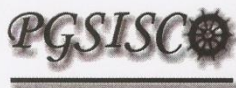
Wisnieski, Edna
W815a Adaptação de um método para determinação de marcadores
orgânicos e aplicação em sedimentos marinhos antárticos / Edna
Wisnieski. – Pontal do Paraná, 2012.
96 f.; 29 cm.

Orientador: Dr. César de Castro Martins.

Dissertação (Mestrado) – Programa de Pós-Graduação em
Sistemas Costeiros e Oceânicos, Centro de Estudos do Mar, Setor
de Ciências da Terra, Universidade Federal do Paraná.

1. Matéria orgânica. 2. Sedimentos. 3. Península Antártica.
4. Fontes de matéria orgânica. I. Título. II. César de Castro Martins.
III. Universidade Federal do Paraná.

CDD 551.354



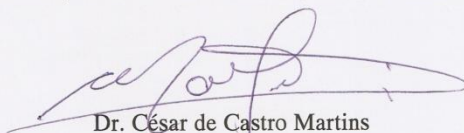
Curso de Pós-Graduação em Sistemas
Costeiros e Oceânicos da UFPR
Centro de Estudos do Mar - Setor Ciências da Terra - UFPR
Aven. Belgo-mar, s/n.º - Baln. Pontal do Sul - Pontal do Paraná - Paraná - Brasil
Tel. (41) 3511 8644 - Fax (41) 3511 8644 - www.cem.ufpr.br/pgssisco - pgssisco@ufpr.br

TERMO DE APROVAÇÃO

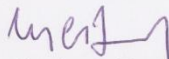
Edna Wisnieski

ADAPTAÇÃO DE UM MÉTODO PARA DETERMINAÇÃO DE MARCADORES ORGÂNICOS E APLICAÇÃO EM SEDIMENTOS MARINHOS ANTÁRTICOS

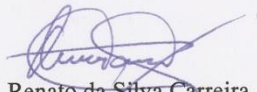
Dissertação aprovada como requisito parcial para a obtenção do grau de
Mestre em Sistemas Costeiros e Oceânicos, da Universidade Federal do
Paraná, pela Comissão formada pelos professores:



Dr. César de Castro Martins
Orientador e Presidente



Dr. Marcelo Corrêa Bernardes (UFF)
Membro Examinador



Dr. Renato da Silva Carreira (PUC-RJ)
Membro Examinador

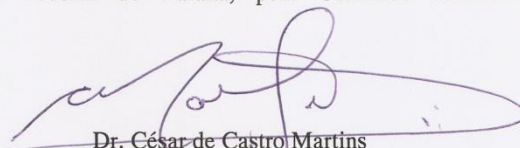
Pontal do Paraná, 26/03/2012.

*“ADAPTAÇÃO DE UM MÉTODO PARA DETERMINAÇÃO DE
MARCADORES ORGÂNICOS E APLICAÇÃO EM SEDIMENTOS
MARINHOS ANTÁRTICOS”*

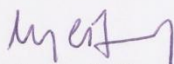
POR

Edna Wisnieski

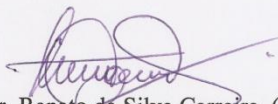
Dissertação nº 94 aprovada como requisito parcial do grau de Mestre no
Curso de Pós-Graduação em Sistemas Costeiros e Oceânicos da
Universidade Federal do Paraná, pela Comissão formada pelos
professores:



Dr. César de Castro Martins
Orientador e Presidente



Dr. Marcelo Corrêa Bernardes (UFF)
Membro Examinador



Dr. Renato da Silva Carreira (PUC-RJ)
Membro Examinador

Pontal do Paraná, 26/03/2012.

Agradecimentos

Primeiramente, agradeço meus pais por tudo que são e representam para mim, por sempre estarem presentes, mesmo a quilômetros de distância, vocês são meus alicerces.

Aos Profs. Drs Renato da Silva Carreira, do Departamento de Química da Pontifícia Universidade Católica do Rio de Janeiro (PUC-RJ) e Marcelo Correa Bernardes, do Depto de Geoquímica da Universidade Federal Fluminense (UFF) pela contribuição na avaliação deste trabalho.

Ao laboratório de Química Orgânica Marinha do IO USP, especialmente a Prof^a Dra. Márcia C. Bicego e a Dra. Satie Taniguchi pelas análises cromatográficas. Ao Felipe Sales de Freitas pela injeção das amostras no GC-FID e GC-MS.

Ao meu orientador César de Castro Martins, por mais uma vez confiar no meu trabalho, pela dedicação, pela paciência, por tudo que me ensinou, tanto na vida acadêmica como profissional, pelas oportunidades de crescimento e aprendizado. Ao total, foram cinco anos trabalhando juntos, e com certeza, sentirei falta dessa convivência. Obrigada por tudo César.

A Liziane Marcela. Sem você, não tenho muita certeza que esse trabalho sairia. Obrigada pelas horas e horas passando frio, cuidando de colunas, evaporando amostras, e acima de tudo, pela sua amizade.

Daia, obrigada pela companhia nesses últimos dois anos, dividindo o mesmo teto. E obrigada por toda ajuda que disponibilizou para mim nessa reta final, formatando, arrumando, corrigindo, etc..

E por fim, mas ainda assim, sem menos importância, obrigada a todos os meus amigos, que de alguma maneira também contribuíram com a conclusão desse trabalho, seja no próprio trabalho acadêmico, seja fora desse meio.

A CAPES pela Bolsa de Mestrado e ao CNPq pelo recurso financeiro através do Instituto Nacional de Ciência e Tecnologia Antártico de Pesquisas Ambientais (INCT-APA).

SUMÁRIO GERAL

Resumo	8
Abstract	9
Introdução Geral	10
Referências	12
Capítulo 1	13
Otimização de um método analítico para determinação de múltiplas classes de marcadores orgânicos geoquímicos em amostras de sedimentos marinhos.....	13
Capítulo 2	48
Fontes e variação temporal na entrada de matéria orgânica indicado por n- alcanóis e esteróis em testemunhos de sedimentos da Baía do Almirantado, Antártica.....	48

Resumo

Este estudo é apresentado em duas partes. A primeira parte tem como objetivo principal a otimização de um método alternativo para determinação de múltiplos marcadores orgânicos em sedimentos marinhos e a segunda parte consiste na aplicação deste método em testemunhos de sedimento para avaliar fontes e distribuição da matéria orgânica na região da Península Antártica. Para isso, testes analíticos foram realizados na etapa clean up do método, possibilitando a obtenção de n-alcenos (AHs), esteróis (OLs) e n-alcenóis (ALCs) através de uma única extração. As alterações no método possibilitaram uma redução no consumo de solventes e adsorventes, bem como na produção de descartes e otimizaram o tempo de trabalho em laboratório. Os valores de recuperações de padrões externos foram de 60 – 129% para n-alcenos, 52 – 67% para OLs e 43 – 141% para ALCs, dentro da faixa de valores aceitáveis estabelecida. Os testes de repetibilidade (todos com os compostos com variabilidade <25%) e comparação com materiais de referência (resultados dentro da faixa aceitável) também indicaram que o método é satisfatório para análise desses marcadores. Após a etapa de validação, confirmada por esses testes citados, o método foi então aplicado em sedimento coletados na Baía do Almirantado (Ponta Barrel-BAR, Refúgio-REF e Ferraz-FER), localizados na Península Antártica. As concentrações de OLs totais variaram de 0,91 a 13,99 $\mu\text{g.g}^{-1}$, dos ALCs totais entre 0,20 a 2,14 $\mu\text{g.g}^{-1}$ e do fitol de 0,13 a 2,38 $\mu\text{g.g}^{-1}$. Colest-5-en-3 β -ol foi o esteroide mais abundante nos testemunhos da Baía do Almirantado, indicando que a matéria orgânica da região recebe contribuição de fito e zooplâncton, bem como animais superiores. Para os esteróis fecais 5 β -colestano-3 β -ol e 5 β -colestano-3 α -ol, as concentrações foram abaixo dos valores de *background* da região (<LDM a 0,15 $\mu\text{g.g}^{-1}$), assim como a razão coprostanol/epicoprostanol que apresentou valores que condizem com uma origem natural (aves e mamíferos marinhos) para esses compostos. Os valores da razão estanol/estenoal indicaram a ocorrência da diagênese do esteroide insaturado, com menor intensidade em BAR. Os ALCs C₁₂ a C₂₀ foram predominantes, indicando que as maiores contribuições para a matéria orgânica são de algas, bactéria e zooplâncton, e pouca contribuição de vegetação. Fitol registrou variação ao longo dos perfis, e suas concentrações foram relativamente baixas podendo ser reflexo da degradação do composto ao longo da coluna sedimentar. As variações nas concentrações de alguns compostos foram comparadas com a variação da temperatura média do ar ao longo do tempo no testemunho de FER. Os resultados parecem indicar para uma tendência de aumento de alguns compostos em períodos em que a temperatura média do ar estava mais elevada. Entretanto, os dados obtidos com esse trabalho não são suficientes para permitirem afirmar tal tendência como verdadeira, sendo essa então apenas uma observação, que pode ser confirmada com estudos futuros, focando nesse objetivo, e com ferramentas adequadas e que gerem as informações necessárias. A distribuição de todos os compostos aponta o predomínio de fontes marinhas, de origem natural, com contribuições significativas do plâncton e animais superiores, condizentes com trabalhos já realizados na região. Estes resultados indicam que o método otimizado é válido e eficiente na determinação dessas classes de marcadores em sedimentos marinhos.

Abstract

This study consists in two chapters. The first chapter is focused in the validation of alternative method for determination of multiple organic markers in marine sediments and the second chapter consists in the application of this method in sediment cores to evaluate sources and distribution of organic matter in the Antarctic Peninsula region. For this aims, analytical tests were performed in clean-up step, allowing to obtain n-alkanes (AHs), polycyclic aromatic hydrocarbons (PAHs), sterols (OLs) and n-alkanols (ALCs) through a single extraction. These changes allowed the reduction of solvents and adsorbents consumed, as well as the discards produced and working time. A spiked-recovery experiment showed values were 60-129% for n-alkanes, 50-115% for PAHs, 52-67% for OLs and 43-141% for ALCs and were considered in the acceptable range values. The precision tests (standard deviation for all compounds < 25%) and the comparison with reference materials (results were in acceptable range) also demonstrated that the method is appropriate for analysis of these markers. After the validation, the method was applied to sediment samples collected in Admiralty Bay (BAR, REF and FER), located on the Antarctic Peninsula. The total sterols concentrations ranged from 0.91 to 13.99 $\mu\text{g.g}^{-1}$, the total n-alkanols between 0.20 and 2.14 $\mu\text{g.g}^{-1}$ and the phytol concentrations from 0.13 to 2.38 $\mu\text{g.g}^{-1}$. Colest-5-en-3 β -ol was the most abundant sterol in cores of Admiralty Bay, indicating that the organic matter in this region receives contribution of phyto- and zooplankton as well as higher animals. The concentrations values of 5 β -colest-3 β -ol e 5 β -colest-3 α -ol (fecal sterols) were below the region background value (>LDM a 0.15 $\mu\text{g.g}^{-1}$), as well as the coprostanol/epicoprostanol ratio showed values that were consistent with natural sources (birds and marine mammals) for these compounds. The stanol/estanol ratio values indicated the occurrence of diagenesis in unsaturated sterol, with less intensity in BAR. The C₁₂ a C₂₀ ALCs were predominant, indicating that the largest organic matter contributions were algae, bacteria and zooplankton, and a little contribution of vegetation. The phytol profiles showed little variation along the profile and the concentrations were relatively low. These values may reflect the compound degradation along the sedimentary column. Concentration variations of some compounds were compared with the variation of average air temperature over time in FER core. The results appear to indicate a increase tendency of some compounds in periods when the air temperature was higher. However, the data obtained in this work are not sufficient to allow to affirm this trend as true, then this is just an observation, which can be confirmed by furthers studies, focusing on that main, and with tool that generate the necessary information. The compounds distribution indicated marine sources predominance, with natural origin and significant contributions of plankton and higher animals, consistent with previous studies in the region. These results indicate that the analytical method is valid and efficient in determining these markers in marine sediments.

Introdução Geral

A geoquímica orgânica representa uma importante ferramenta na investigação de características ambientais baseada na variabilidade da matéria orgânica a partir de fontes aquáticas e terrestres (Holtvoeth et al., 2010).

A distribuição de lipídios em sedimentos pode fornecer informações a cerca da origem (marinha, terrestre ou antrópica) e padrões de transporte da matéria orgânica e condições oceânicas (ex. temperatura, níveis de nutrientes, estratificação, etc.) (Schefuß et al., 2004). A composição e a distribuição vertical de lipídios nos sedimentos são determinadas pelas diferentes características das fontes (fito e zooplâncton, algas, animais, plantas terrestres, etc.), pela série de componentes específicos (estrutura química, reatividade) e pelas características específicas do ambiente (taxa de sedimentação, concentração de oxigênio e zonação redox) (Colombo et al., 1997).

Marcadores geoquímicos tais como n-alcanos, alcoóis, esteróis, alquenonas e ácidos graxos são frequentemente utilizados para identificar a entrada de carbono a partir de vários organismos em ambientes marinhos (Volkman et al., 1992; Belicka & Harvey, 2009), além de identificar fontes marinhas e terrestres como fitoplâncton, bactérias, macrofitas, plantas terrestres e fontes antropogênicas (Holtvoeth et al., 2010).

O estudo de marcadores geoquímicos em colunas sedimentares (ou testemunhos de sedimentos) de ambientes aquáticos é bastante difundido graças à possibilidade de obtenção de registros históricos relacionados a eventos ambientais (Laureillard et al., 1997). As informações que podem ser geradas remetem a períodos remotos onde as características naturais do ambiente não foram modificadas pela atividade antrópica até períodos recentes, fornecendo um panorama evolutivo de uma série de transformações ambientais (Buckley et al., 1995; Li et al., 2000).

O interesse científico pelos ciclos geoquímicos vem aumentando de maneira significativa, principalmente em áreas não poluídas, porque nessas regiões a ciclagem da matéria orgânica está relacionada aos processos de origem biogênica, e não há interferência de aportes expressivos de origem antrópica (Laureillard et al., 1997).

A região antártica vem sendo extensivamente estudada nas últimas décadas, em busca de informações sobre o comportamento do ambiente ao longo do tempo. Essa região apresenta características peculiares, como baixa temperatura anual, sazonalidade bem definida e ausência de plantas superiores. Estas características garantem um elevado grau de especificidade quanto às fontes naturais de lipídios (dos quais os esteróis constituem uma

classe), desde a coluna d'água até os sedimentos, correspondendo a diferentes impressões digitais da produção primária em escalas variáveis de tempo geológico (Laureillard et al., 1997).

Entretanto, para obter todas as informações que os marcadores orgânicos são capazes de fornecer como ferramenta de estudo, é necessária a obtenção de bons resultados, que dependem diretamente do método aplicado, que deve ser confiável e eficiente.

Atualmente existem diversos métodos descritos na literatura para a obtenção da fração lipídica dos sedimentos marinhos (Readman et al., 1986; UNEP, 1992; Kawakami & Montone, 2002), sendo que no Laboratório de Geoquímica e Poluição Marinha da UFPR, o método rotineiramente aplicado apresentava algumas especificidades que poderiam ser aperfeiçoadas e melhoradas, tornando o método mais eficiente.

Nesse contexto, os objetivos desse trabalho foram: propor uma otimização do método analítico para a determinação de múltiplos marcadores orgânicos geoquímicos em sedimentos através de uma única extração. E a aplicação em testemunhos de sedimentos marinhos antárticos, a fim de identificar fontes e variações no aporte de matéria orgânica ao longo do tempo, através do uso de esteróis e n-alcanóis.

Referências

- BELICKA, L.L., HARVEY, H.R. The sequestration of terrestrial organic carbon in Arctic Ocean sediments: A comparison of methods and implications for regional carbon budgets. *Geochimica et Cosmochimica Acta*, v. 73, p. 6231–6248, 2009.
- BUCKLEY, D. E.; SMITH, J. N. & WINTERS, G. V. Accumulation of contaminant metals in marine sediments of Halifax Harbour, Nova Scotia: environmental factors and historical trends. *Applied. Geochemistry*. v. 10, p. 175-195, 1995.
- COLOMBO, J. C.; SILVERBERG, N. & GEARING, J. N. Lipid biogeochemistry in the Laurentian Trough – II. Changes in composition of fatty acids, sterols and aliphatic hydrocarbons during early diagenesis. *Organic Geochemistry*. v. 26, n. 3/4, p. 257-274, 1997.
- HARJI, R.R., BHOSLE, N.B., GARG, A., SAWANT, S.S., VENKAT, K. Sources of organic matter and microbial community structure in the sediments of the Visakhapatnam harbour, east coast of India. *Chemical Geology*, v. 276, p. 309–317, 2010.
- HOLTVOETH, J., VOGEL, H., WAGNER, B., WOLFF, G.A. Lipid biomarkers in Holocene and glacial sediments from ancient Lake Ohrid (Macedonia, Albania). *Biogeosciences*, v. 7, p. 3473–3489, 2010.
- KAWAKAMI, S. K. & MONTONE, R. C. An efficient ethanol-based analytical protocol to quality fecal steroids in marine sediments. *Journal of the Brazilian Chemical Society*, v. 13, p. 226-232, 2002.
- LAUREILLARD J., PINTURIER, L., FILLAUX J., & SALIOT, A. Organic geochemistry of marine sediments of the Subantarctic Indian Ocean sector: Lipid classes – sources and fate. *Deep-Sea Research II*, v. 44, p. 1085-1108, 1997.
- LI, X.; WAI, O. W. H., LI, Y. S., COLES, B. J. RAMSEY, H. & THORNTON, I. Heavy metal distribution in the sediment profiles of the Pearl River estuary, South China. *Applied Geochemistry*, v.15, p. 567-581, 2000.
- READMAN, J. W., PRESTON, M. R. & MANTOURA, R. F. C. An integrated technique to quantify sewage, oil and PAH pollution in estuarine and coastal environments. *Marine Pollution Bulletin*, v. 17, p. 298-308. 1986.
- SCHEFUB, E., VERSTEEGH, G.J.M.M., JANSEN, J.H.F., SINNINGHE DAMSTÉ, J.S. Lipid biomarkers as major source and preservation indicators in SE Atlantic surface sediments. *Deep-Sea Research I*, v. 51, p. 1199–1228, 2004.
- UNEP. Determination of petroleum hydrocarbons in sediments. United Nations Environment Programme Reference Methods for marine pollution studies, v. 20, p. 1-75, 1992.
- VOLKMAN, J.K., HOLDSWORTH, D., NEILL, G., BAVOR, H. Identification of natural, anthropogenic and petroleum hydrocarbons in aquatic sediments. *Science of Total Environment*, v. 112, p. 203–219, 1992.

Capítulo 1

Otimização de um método analítico para determinação de múltiplas classes de marcadores orgânicos geoquímicos em amostras de sedimentos marinhos.

Sumário

Abstract	14
Introdução.....	15
Parte Experimental	17
<i>Reagentes.....</i>	<i>17</i>
<i>Otimização do Método Analítico.....</i>	<i>18</i>
<i>Testes da etapa de purificação e fracionamento (clean up)</i>	<i>19</i>
<i>Método Final Estabelecido</i>	<i>21</i>
- <i>Extração.....</i>	<i>22</i>
- <i>Fracionamento e purificação (clean up).....</i>	<i>22</i>
- <i>Derivação (Fração 3)</i>	<i>22</i>
- <i>Análise instrumental</i>	<i>24</i>
Validação do Método Otimizado	26
<i>Repetibilidade das Colunas.....</i>	<i>26</i>
<i>Material de Referência e Exercício de Intercalibração</i>	<i>28</i>
<i>Matriz Fortificada.....</i>	<i>29</i>
<i>Limite de detecção do método</i>	<i>30</i>
<i>Branco de Extração</i>	<i>32</i>
Análise de Amostras de Sedimento Marinho.....	32
<i>Esteróis, n-alcanóis e fitol.....</i>	<i>33</i>
Conclusões.....	35
Referencias	36
Material Suplementar	38

Abstract

This paper describes the optimization of an alternative method for determination of n-alkanes, polycyclic aromatic hydrocarbons (PAHs), sterols (OLS) and n-alkanols (ALCs) in marine sediments, through adaptations of clean up. The method reduced the material consumption, the discards produced and working time. The recovery percentages were 60-129% for n-alkanes, 52-67% for OLS and 43-141% for ALCs, acceptable values compared to other studies. The application in Antarctic marine sediments presented satisfactory results indicating contribution of planktonic organisms, higher animals and a little contribution from vegetation.

Palavras-chave: marcadores orgânicos, sedimentos, cromatografia gasosa

INTRODUÇÃO

Marcadores orgânicos geoquímicos são compostos com características como natureza específica, estabilidade química e resistência à degradação, e por isso podem ser utilizados como indicadores de eventos e processos ao longo do tempo.¹ Entre os principais marcadores utilizados atualmente podemos citar os esteróis, hidrocarbonetos alifáticos e aromáticos, ácidos graxos, n-alcanóis, alquenonas, entre outros. São amplamente empregados na avaliação de origem e distribuição de matéria orgânica marinha, de alterações ambientais, assim como na identificação de contaminação ambiental associada às atividades antrópicas.^{2,3,4,5}

O principal destino de marcadores orgânicos após serem introduzidos em ecossistemas aquáticos são os sedimentos de fundo, constituindo um importante compartimento de acumulação destes compostos em níveis mais elevados que aqueles observados na coluna d'água adjacente.⁶ Para estudos de transformações ambientais em diferentes escalas de tempo, são empregadas colunas sedimentares (ou testemunhos de sedimentos), que permitem obter registros históricos relacionados aos processos deposicionais.⁶ As informações que podem ser geradas remetem a períodos remotos onde as características naturais do ambiente não foram modificadas pela atividade antrópica até períodos recentes, fornecendo um panorama evolutivo de uma série de alterações ambientais.^{7,8,9}

Os diferentes métodos de determinação de marcadores orgânicos utilizados em estudos de geoquímica marinha adotam os seguintes passos: (i) extração, (ii) purificação e fracionamento por cromatografia de adsorção em coluna (*clean up*), (iii) derivação, que é a conversão de compostos que apresentam grupos hidroxila e carboxila, como é o caso dos esteróis, n-alcanóis e ácidos graxos, em formas químicas mais apropriadas para resolução cromatográfica e, por fim; (iv) a análise instrumental que é, geralmente,

baseada em cromatografia em fase gasosa e detectores específicos com a finalidade de separação, identificação e quantificação de cada composto.^{10,11,12}

O fracionamento e a purificação do extrato orgânico são passos fundamentais na determinação de compostos provenientes de matrizes sólidas, como os sedimentos marinhos, pois é responsável pela “limpeza” e separação dos constituintes presentes nas amostras.¹³ Geralmente é utilizada uma coluna cromatográfica com adsorventes específicos (sílica e alumina, por exemplo), bem como solventes de diferentes polaridades na eluição dos respectivos compostos.

A eficiência do solvente em selecionar os compostos de interesse adsorvidos na coluna cromatográfica, após eluição do extrato orgânico concentrado, depende da afinidade química com as diversas classes de marcadores orgânicos, do ajuste na quantidade de adsorventes e nos volumes de solventes utilizados para eluição de cada fração. Esses fatores são cruciais para uma separação precisa das diferentes classes de marcadores orgânicos, necessários para uma caracterização ambiental.

Existem diferentes métodos de obtenção da fração lipídica dos sedimentos marinhos, cada qual com especificidades quanto a quantidade de adsorventes e solventes;^{11,14,15} quanto às classes de compostos que se pode obter;^{16,17,18,19} e ainda entre as quantidades de amostra necessária e de material de laboratório e o tempo dispensado no processo laboratorial.^{11,12,14,16,20,21}

O método rotineiramente aplicado no Laboratório de Geoquímica e Poluição Marinha (UFPR) apresenta algumas especificidades que acabam limitando-o em alguns pontos, e com o intuito de minimizar essas limitações, o objetivo desse trabalho foi otimizar um método analítico alternativo para a determinação de marcadores orgânicos geoquímicos em sedimentos marinhos, através de adaptações na etapa de *clean up*, para obter diferentes classes de marcadores (hidrocarbonetos alifáticos – AHs,

hidrocarbonetos policíclicos aromáticos – HPAs, esteróis – OLs e n-alcanóis – ALCs) em uma única extração, e assim diminuir tempo de trabalho laboratorial, massa necessária de amostras, consumo de material de laboratório e descartes gerados.

PARTE EXPERIMENTAL

Reagentes

Para todos os testes foram tomados cuidados prévios antes e durante as análises, tais como alto grau de pureza de solventes, a citar: etanol (EtOH) (99,9% pureza mínima), hexano (95% n-hexano) e diclorometano (DCM) (ambos com 99,9% pureza mínima) e metanol (MeOH) (100% pureza), todos fornecidos pela J.T. Baker e Mallinckrodt Chemicals; e dos reagentes inorgânicos utilizados como adsorventes, a citar: alumina (Al_2O_3 – óxido de alumínio 90 ativo, 0,063-0,200 mm, Merck), sílica gel (SiO_2 – sílica gel 60, 0,063 - 0,200 mm, Merck) e sulfato de sódio (Na_2SO_4 , 98% pureza mínima, J.T. Baker).

Os adsorventes foram calcinados (em forno mufla por 4 horas a 400 °C) e armazenados adequadamente em dessecador sob vácuo até o uso. Para eliminação de possíveis interferências causadas por enxofre, foram utilizados fios de cobre, tratados por 30 minutos em solução de ácido clorídrico (HCl 2 mol L^{-1} , preparado de uma solução 37% P.A. – ACS, F.Maia), enxaguados com água destilada, emersos em etanol e por fim em mistura de 50% n-hexano:DCM, utilizada na extração.

Todo material utilizado nas extrações foi devidamente lavado antes de sua utilização, ficando emerso por aproximadamente 12 horas em solução contendo detergente alcalino Extran[®] (Merck) e, após seco em estufa a aproximadamente 150° C, o material foi calcinado a 400 °C por 4 horas. O material volumétrico foi seco a temperatura ambiente, e no momento da utilização, lavado 3 vezes com os solventes

utilizados no processo, de forma a minimizar a possibilidade de contaminação orgânica do material.

Os padrões de 5α -androstan- 3β -ol (98% de pureza), 5α -colestano (99% de pureza), 5β -colestano- 3β -ol (> 98% de pureza), 5β -colestano- 3α -ol (> 95% de pureza), colest-5-en- 3β -ol (94% de pureza), 5α -colestano- 3β -ol (95% de pureza), 24-etil-colesta-5,22E-dien- 3β -ol (> 95% de pureza), 24-metil-colest-5-en- 3β -ol (*ca.* 65% de pureza) e 24-etil-colest-5-en- 3β -ol (> 95% de pureza) foram obtidos da Sigma Aldrich. Os padrões sub-rogados eicoseno e hexadeceno e o padrão interno tetradeceno foram obtidos da Supelco (99,7 - 99,9 % de pureza). Os n-alcanos e isoprenóides (C_{10} - C_{40} + pristano + fitano) – DRH-008S-R2 a mistura de HPAs (Z-014G-FL) bem como a mistura de padrões sub-rogados para HPAs (Z014-J foram obtidos da AccuStandard (98.7 – 100% de pureza). Os n-alcanóis n- C_{12} OH a n- C_{18} OH foram obtidos da Fluka e os n- C_{19} OH a n- C_{30} OH da Sigma-Aldrich, todos com pureza entre 95,7 e 99,9 %.

Otimização do Método Analítico

O método utilizado para determinar AHs, HPAS e esteróis OLs atualmente no LaGPom, assim como verificado em trabalhos recentes, a citar,^{22,23,24,25} tem sido pela realização de duas extrações independentes, uma para obter os AHs e HPAs^{21,26,27} e outra para OLs.¹⁶

Cada extração parte da massa de 20 g de amostra, sendo necessárias então, no mínimo, 40 g por amostra para a obtenção dos compostos listados anteriormente, quantidade esta nem sempre alcançada dependendo do método de amostragem. A utilização de solventes e adsorventes, bem como a quantidade de descartes resultantes, também é maior, pois o procedimento de extração e *clean up* é repetido para cada extração realizada de forma independente.

A etapa de purificação e fracionamento em cromatografia de adsorção em coluna foi escolhida para otimização do método analítico. O principal objetivo é remover outros materiais co-extraídos como macromoléculas biogênicas e pigmentos que possam interferir na determinação e quantificação final dos compostos de interesse.¹² Existem vários procedimentos de *clean up*, porém a cromatografia de adsorção em coluna é o mais usado na análise de marcadores orgânicos.

Testes da etapa de purificação e fracionamento (clean up)

O objetivo desse teste foi identificar no método rotineiro do laboratório, qual solvente e em qual volume é mais eficiente no fracionamento das diferentes classes de compostos orgânicos a serem eluídos na fração 3 (F3) (OLs e ALCs), uma vez que as frações 1 (F1) e 2 (F2) já são obtidas de maneira satisfatória com base no protocolo descrito em UNEP²¹. Embora tenha feito parte dos testes, os resultados de F2 não foram analisados e não constaram na discussão.

Em colunas cromatográficas (com dimensões de 0,5 cm diâmetro interno e 37 cm de altura) contendo 3,2 g de sílica 5% desativada com água isenta de compostos orgânicos, 1,8 g de alumina 5% desativada e sulfato de sódio, foram adicionadas uma mistura de padrões externos (analitos listados anteriormente, que se deseja quantificar nas amostras ambientais) de AHs, HPAs, OLs e ALCs, bem como padrões sub-rogados (eicoseno e hexadeceno (F1), HPAs deuterados (F2) e 5 α -androstanol (F3)).

As etapas de eluição das frações F1 e F2 foram semelhantes para todos os testes, utilizando 10 mL de n-hexano para F1 e 15 mL de mistura 30% DCM/n-hexano para F2. Para F3, diferentes volumes e solventes foram testados em diferentes colunas, conforme apresentados na Tabela 1.

TABELA 1. SOLVENTES E VOLUMES UTILIZADOS NOS TESTES DO MÉTODO ANALÍTICO.

Coluna	Teste 1	Teste 2	Teste 3
A	20 mL MeOH:DCM (1:9)	20 mL EtOH	5 mL EtOH:DCM (1:9)/ 20 mL de EtOH
B	20 mL EtOH:DCM (1:9)	20 mL MeOH	5 mL MeOH:DCM (1:9)/ 20 mL de MeOH
C	20 mL MeOH:DCM (3:7)	30 mL EtOH	
D	20 mL EtOH:DCM (3:7)	30 mL MeOH	
E	20 mL MeOH:DCM (1:1)	30 mL MeOH:DCM (1:1)	

A avaliação dos testes de *clean up* foi feita de forma qualitativa, comparando os cromatogramas obtidos em cada um dos testes com cromatogramas de soluções de padrão sub-rogado e de padrão externo de OLs e ALCs. Como esperado, a recuperação dos padrões externos da fração F1 foi satisfatório, visto que a etapa do fracionamento já é rotineiramente empregada.²¹

Para a fração F3, a recuperação dos compostos não foi satisfatória, não sendo bem resolvidos os compostos em todas as variações de solventes e volumes (colunas A.1, B.1, C.1, D.1 e E.1) dentro do teste 1 (Figura 2).

No teste 2, a análise qualitativa dos cromatogramas mostrou que a melhor separação dos compostos ocorreu nas colunas D.2 e A.2, eluídas com 30 mL de MeOH e 20 mL de EtOH, respectivamente, como mostrado na Figura 2. As demais colunas não apresentaram uma boa recuperação. A coluna C.2 apresentou uma separação satisfatória, entretanto, como se trata de EtOH, mesmo solvente da coluna A.2, mas em volume maior, a coluna A.2 foi considerada mais eficiente, por apresentar bons resultados e menor consumo de solvente.

Nos cromatogramas das frações 1 e 2 dos testes D.2 e A.2, não foram identificados nenhum dos compostos esperados na fração 3, e portanto, pode-se concluir que estes não estão sendo eluídos nas etapas prévias do *clean up* (Figura 1).

Assim, com base nos resultados obtidos com o teste 2, dois solventes mostraram-se mais eficientes na seleção dos compostos em F3, o EtOH e MeOH.

A partir dos resultados obtidos no teste 3, a coluna A.3 (5 mL da mistura EtOH:DCM (1:9), seguido de 20 mL de EtOH) foi selecionada para compor o novo método.

Método Final Estabelecido

Uma vez estabelecida a melhor maneira de se realizar a etapa de purificação e fracionamento dos marcadores orgânicos, o método analítico completo, incluído as etapas de extração e análise instrumental, foi validado e empregado na determinação de marcadores orgânicos em sedimentos marinhos da região Antártica. A seguir, são descritos os detalhes do método analítico utilizado.

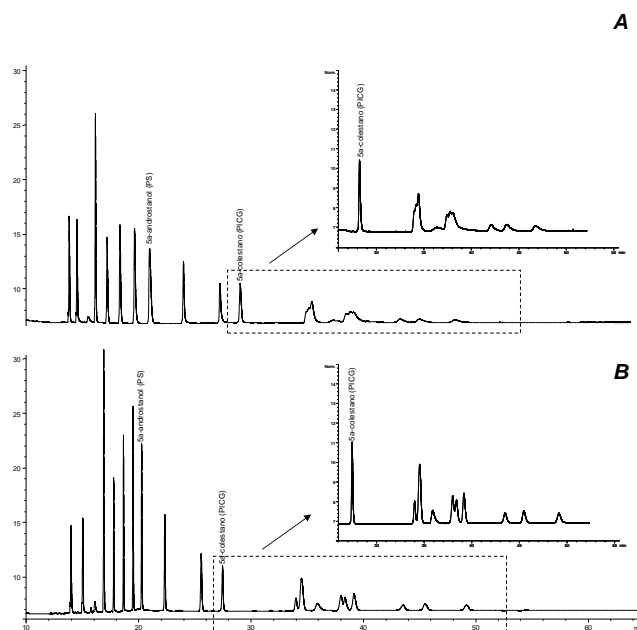


Figura 1. Cromatogramas com exemplo do teste 1 (A) e com o método mais eficaz do teste 2 (B), considerado o mais adequado para compor o novo método. Na parte inicial do cromatograma encontram-se os *n*-alcanóis, e no zoom os esteróis.

- *Extração*

A extração dos compostos foi feita com base no protocolo estabelecido por UNEP²¹ e consiste na extração em sistema Soxhlet, por 8 horas, em 80 mL de solução n-hexano/DCM (1:1), partindo de aproximadamente 20 g de sedimentos, adicionado dos padrões sub-rogados para AHs, HPAs, OLs, ALCs e de cobre. Em seguida, as amostras foram concentradas em rotavapor a vácuo até aproximadamente 2 mL, e levadas para etapa de *clean up*.

- *Fracionamento e purificação (clean up)*

O *clean up* foi realizado pela passagem do extrato através de uma coluna cromatográfica (com dimensões de 0,5 cm diâmetro interno e 37 cm de altura) de vidro, preenchida com 3,2 g de sílica 5% desativada com água destilada isenta de compostos orgânicos, 1,8 g de alumina 5% desativada e sulfato de sódio. A eluição foi realizada utilizando 10 mL de n-hexano na F1 (AHs); 15 mL de 30% DCM/n-hexano para a F2 (HPAs); e 5 mL EtOH:DCM (1:9) seguidos de 20 mL de EtOH para a F3 (OLs e ALCs).

As frações 1 e 2 foram concentradas em rotavapor a vácuo até aproximadamente 0,5 mL, transferidas para ampolas adicionadas dos padrões internos (tetradeceno – F1 - e benzo(b)fluoranteno-d₁₂ – F2), com concentração final de 5 ng.µL⁻¹ em F1 e 0,5 ng.µL⁻¹ em F2, e aferidas para o volume final de 1 mL com n-hexano.

- *Derivação (Fração 3)*

A F3 foi evaporada até secagem total do extrato, sendo, em seguida, submetida ao processo de derivação, através da adição de 40 µL do reagente N,O-bis (trimetil-silil-trifluor-acetamida)/trimetil-cloro-silano (BSTFA/TMCS – 99:1), durante 90 minutos à temperatura aproximada de 70 °C, em banho-maria. O excesso de reagente foi evaporado com N₂ e o sólido resultante foi dissolvido em cerca de 0,5 mL de n-hexano,

sendo transferido para ampolas, adicionada de padrão interno (5α -colestano), com concentração final de $2 \text{ ng} \cdot \mu\text{L}^{-1}$, sendo aferido o volume final de 1 mL com n-hexano. Desta forma, o método analítico otimizado, baseado nas modificações testadas e nos resultados obtidos pode ser esquematizado conforme mostrado na Figura 3.

As alterações propostas ao método modificado^{21,16} tornaram viável a obtenção de mais de uma classe de marcadores com uma única extração, reduzindo em 50% o tempo de trabalho em laboratório. Com isso, os custos envolvidos nas análises acabam sendo menores, pois o consumo de materiais e produtos químicos nas extrações diminui. A ausência do uso de metanol, empregado em outros métodos^{14,3} representa menor probabilidade de prejuízos à saúde, pois o etanol é menos tóxico. Outra vantagem é tempo de extração, estabelecido em 8 horas, enquanto em outros métodos, pode-se chegar até 24 horas.^{2,12}

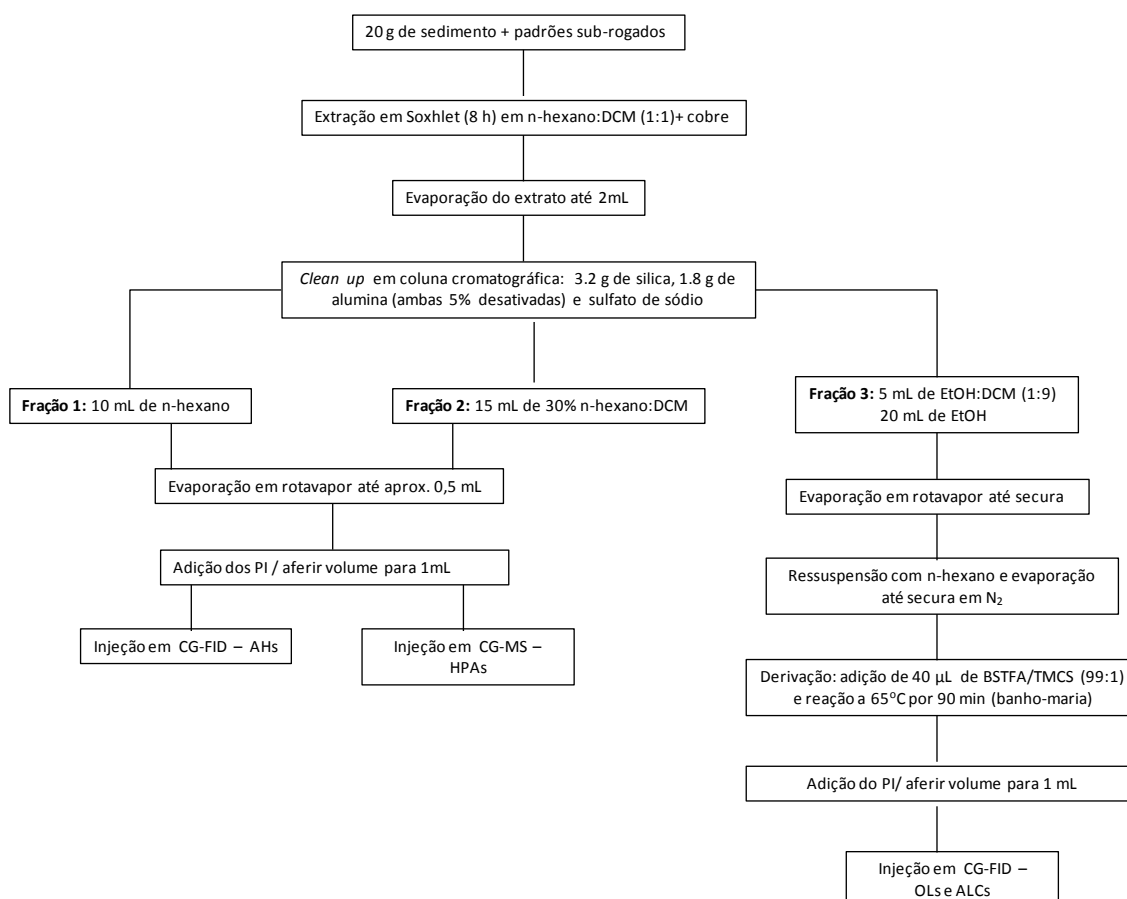


Figura 2. Procedimento analítico validado neste trabalho.

- Análise instrumental

Para a fração F1, foram injetados 1 μL da amostra em um cromatógrafo gasoso (Agilent GC System 7890A Series), equipado com um detector de ionização de chama (GC-FID), em modo sem divisão da amostra, utilizando H_2 como gás de arraste. A coluna cromatográfica utilizada foi HP-5 Agilent 19091J-413, com dimensões de 30,0 m x 0,320 mm x 0,25 μm d.i. As temperaturas do injetor e detector foram de 300 e 325 $^{\circ}\text{C}$, respectivamente. A temperatura de programação teve início a 40 $^{\circ}\text{C}$ aumentando para 60 $^{\circ}\text{C}$ a uma taxa de 20 $^{\circ}\text{C min}^{-1}$, em seguida para 290 $^{\circ}\text{C}$ a uma taxa de 5 $^{\circ}\text{C min}^{-1}$, permanecendo por 5 minutos e, finalmente, para 300 $^{\circ}\text{C}$ a 5 $^{\circ}\text{C min}^{-1}$, permanecendo nessa temperatura por 11 minutos. O fluxo dos gases do detector foi de 40 mL min^{-1} para o H_2 , 450 mL min^{-1} para o ar sintético e 2 mL min^{-1} para o N_2 (complementar)

As amostras da fração F2 foram injetadas em um cromatógrafo a gás (Agilent GC System 6890 Series), equipado com um espectrômetro de massas (GC-MS Agilent Mass Selective Detector 5973 Network) com coluna cromatográfica HP-5 Agilent 19091J-015, com dimensões de 50,0 m x 0,25 mm x 0,25 μm d.i., no modo MSI (*Monitoramento Seletivo de Íons*), sendo registrados apenas os picos relacionados aos dois principais fragmentos (m/z) característicos de cada um dos compostos analisados. A lista completa dos fragmentos característicos pode ser verificada em Martins.²⁸ As condições operacionais no momento da injeção foram: temperaturas do injetor e detector de 280 e 300 $^{\circ}\text{C}$, respectivamente, e de 230 $^{\circ}\text{C}$ da fonte de íons. O programa de temperatura foi o mesmo estabelecido na injeção dos AHs. Foram injetados 1 μL da amostra no modo sem divisão da amostra, utilizando hélio como gás de arraste (1 mL.min^{-1}).

Foram injetadas amostras de sedimento, a título de confirmação, contendo compostos que seriam analisados e não dispunham de padrões (n-C₂₆OH, 24-metil-colesta-5,22E-dien-3β-ol, 4α,23,24-trimetil-colesta-22E-en-3β-ol e fitol). A identificação foi realizada através da análise dos TICs (*Total Ion Chromatogram*), pela razão *m/z* (faixa de massas de 40 a 550 u. m. a.) característicos dos compostos de interesse.

A análise de F3 (OLs e ALCs) foi realizada através de um cromatógrafo a gás (Agilent Technologies 6890), equipado com um detector de ionização de chama (GC-FID) e uma coluna cromatográfica DB-5 (Agilent) com dimensões de 50m x 0.32mm x 0.17 μm d.i.. O programa de aquecimento teve início a 40 °C aumentando para 240 °C a uma taxa de 10 °C min⁻¹, em seguida para 245 °C a uma taxa de 0,15 °C min⁻¹, e, finalmente, para 300 °C a 10 °C min⁻¹, permanecendo nessa temperatura por 9,5 minutos. As temperaturas do injetor e detector, o fluxo de gases e demais condições de injeção foram semelhantes àsquelas utilizadas na determinação dos AHs.

Para a quantificação, foram construídas curvas analíticas dos compostos, com concentrações da solução de padrões externos de n-alcanos e isoprenóides, variando de 0,25 a 10,0 ng.μL⁻¹, HPAs variando entre 0,10 a 1,50 ng.μL⁻¹ e de OLs e ALCs entre 0,25 a 20,0 ng.μL⁻¹. Todos os compostos apresentaram índice de correlação linear de Pearson igual ou superior a 99,5% ($r^2 = 0,995$), critério este utilizado para aceitação das mesmas.

A integração dos picos dos compostos foi feita a partir do software ChemStation 3365, da Agilent Technologies, determinando o fator de resposta de cada composto em relação aos padrões sub-rogados (eicoseno e hexadeceno, HPAs deuterados e 5α-androstanol) adicionados no início da extração de cada amostra. A coincidência entre os

tempos de retenção dos compostos presentes nas amostras e nas soluções de padrões externos foi considerada como fator de identificação dos compostos nas amostras.

A quantificação foi feita a partir das áreas obtidas para cada composto analisado nas amostras, multiplicadas pelo fator de resposta da curva de calibração, em relação à razão massa/área do padrão sub-rogado adicionado em cada amostra. Todas as concentrações são expressas em $\mu\text{g g}^{-1}$ de sedimento seco, exceto para HPAs, expressas em ng g^{-1} .

VALIDAÇÃO DO MÉTODO OTIMIZADO

Repetibilidade das Colunas

Após definir o solvente mais apropriado para o *clean up* da F3, um teste de repetibilidade foi feito, para testar a precisão e eficiência do método.

Para tal, foi realizada a extração de 5 réplicas de sedimento, de uma amostra de sedimento coletada na região do Canal da Cotinga, Baía de Paranaguá, PR, ($25^{\circ}30'47.3''\text{S}$; $48^{\circ}29'46.6''\text{O}$), caracterizada por 94,9% de areia, 5,1% de silte e 3,6% de teor de matéria orgânica. Essa amostra foi escolhida por já ter sido analisada anteriormente, e ter suas concentrações conhecidas para OLs.

Em amostras de sedimento (10 g), foram adicionados os padrões sub-rogados para determinação de AHs, OLs e ALCs e submetidas ao método estabelecido.

Dos compostos analisados em F1, 83,3% apresentaram variabilidade menor do que 25% (Tabela 1S), enquanto em F3, tanto OLs quanto ALCs apresentaram variabilidade inferior a 20% para todos compostos avaliados (Tabelas 2S e 3S). De acordo com Denoux *et al.*,²⁹ é considerado confiável o método que obtenha no mínimo 75% dos compostos analisados dentro da faixa de valores aceitáveis, com um desvio padrão inferior a 25%.

A Figura 3 mostra a variabilidade individual de cada um dos compostos avaliados considerando as réplicas avaliadas. Segundo Wade & Cantillo,³⁰ um mínimo de três réplicas é necessário para validação do método, de modo que a avaliação de quatro réplicas satisfaz esta condição analítica.

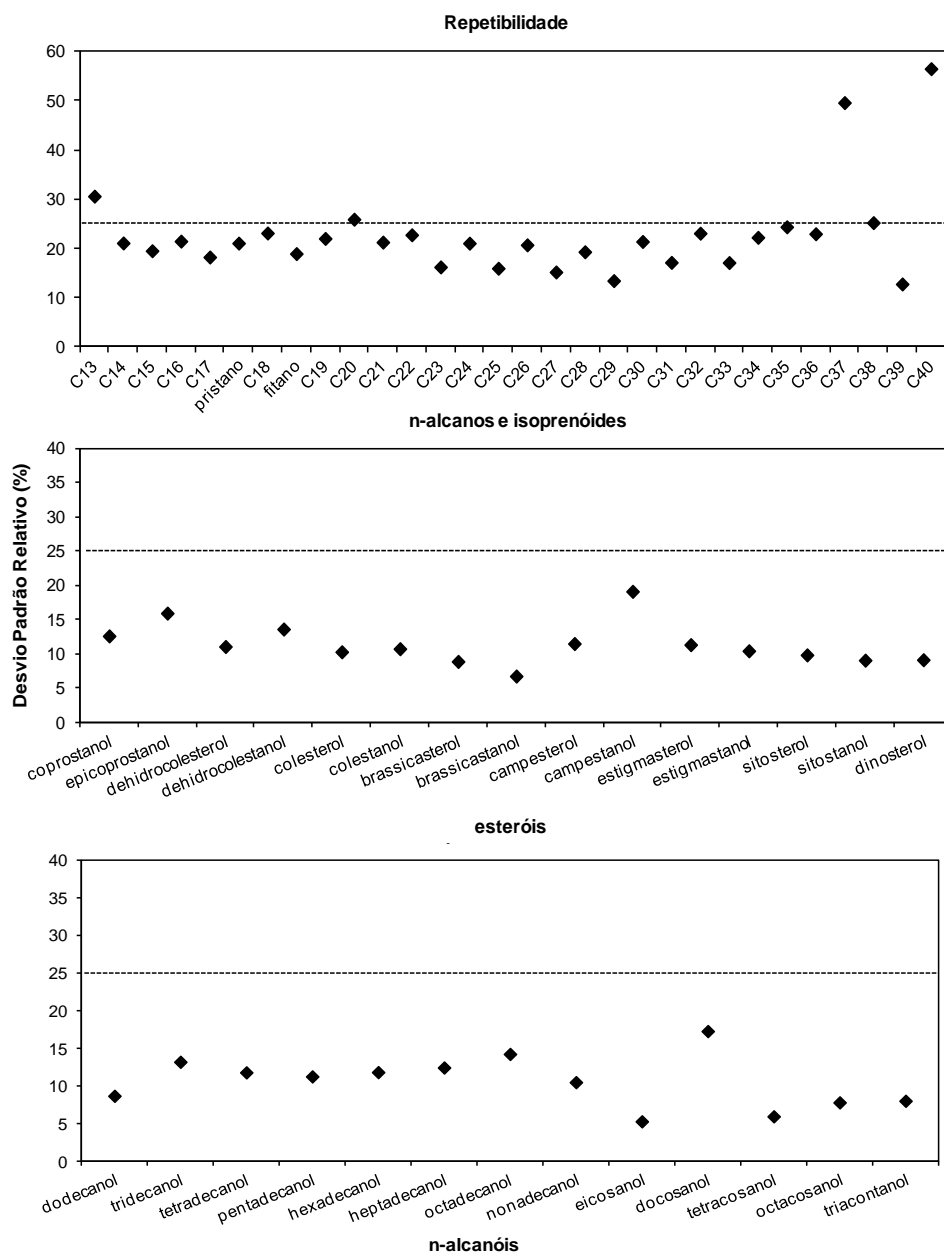


Figura 3. Gráfico da porcentagem de variabilidade média de cada composto avaliado através do teste de repetibilidade.

Uma vez que a principal mudança no método analítico previamente estabelecido se deu na obtenção da F3, os resultados encontrados para os esteróis no teste de variabilidade foram comparados com os obtidos pelo método proposto por Kawakami & Montone.¹⁶

Os resultados mostram que o desvio padrão relativo para a mesma amostra analisada por dois métodos diferentes ficou abaixo de 20% para 92,3% dos compostos analisados (Tabela 4S), indicando que não houve diferença significativa entre os dois métodos de análise para a maioria dos OLs. Portanto, os dados obtidos com o método testado fornecem resultados semelhantes a um método específico, empregado na análise de OLs.¹⁶

Material de Referência e Exercício de Intercalibração

Foi realizada a análise de uma amostra de material de referência certificado para os hidrocarbonetos alifáticos e policíclicos aromáticos (IAEA-417)³¹ preparado pela *Marine Environment Laboratory* (MEL), *International Atomic Energy Agency* (IAEA).

Ao material de referência IAEA 417 (2 g), foram adicionados os padrões subrogados para determinação de AHs, OLs e n-alcanóis e submetidas ao método estabelecido anteriormente.

Comparando os valores obtidos para o material certificado IAEA-417 com seus valores de referência, todos os resultados dos compostos analisados nesse trabalho encontram-se dentro da faixa aceitável estabelecida no relatório de avaliação deste sedimento (Tabela 5S), indicando que o método testado pode ser empregado na determinação de AHs.

Para os OLs não há um material de referência reconhecido, porém existe um exercício de intercalibração (IAEA-408), também preparado pela *Marine Environment*

Laboratory (MEL), *International Atomic Energy Agency* (IAEA). Por não ser certificado para OLs, o método é considerado confiável se 80% dos compostos analisados estiverem dentro da faixa apresentada no relatório do exercício, acrescido de $\pm 30\%$.²⁹ A avaliação geral dos resultados mostra que 80% dos compostos encontraram-se dentro da faixa de valores aceitável (Tabela 6S).

Matriz Fortificada

Com o objetivo de avaliar o comportamento dos compostos a serem analisados, durante o processo de extração, *clean-up* e cromatografia, um teste com uma matriz fortificada, ou seja, amostras adicionadas de analitos de interesse, foi realizado.

Para a análise da matriz fortificada (a mesma amostra utilizada para o teste de repetibilidade), os sedimentos foram calcinados em forno mufla a 400 °C, por 5 horas, para remoção de componentes orgânicos. Uma mistura contendo padrões externos, com concentração conhecida, de n-alcanos, isoprenóides, OLs, ALCs e HPAs, foi adicionada a estes sedimentos calcinados, sendo que a concentração final dos compostos deve corresponder a essa adicionada no início do processo.

Das sete amostras de sedimento fortificadas, todas apresentaram recuperações satisfatórias para os n-alcanos e isoprenóides (Tabela 7S), com valores entre 60,6 (n-C₁₀) a 129,1 (n-C₁₆) com média de $94,2 \pm 15,4\%$ (Figura 5).

Já os OLs avaliados em seis réplicas da F3 apresentaram valores entre 52,3 (24-etil-colestan-3 β -ol) a 66,7 (colest-5-en-3 β -ol)%, com média de $53,1 \pm 5,2\%$ (Figura 5) (Tabela 8S), enquanto ALCs avaliados em cinco réplicas encontraram-se dentro da faixa aceitável, com valores entre 42,9 (n-C₁₆OH) e 140,8 (n-C₂₄OH)% e média de $95,2 \pm 29,5\%$ (Figura 5) (Tabela 9S). Desta maneira, todas as frações apresentaram valores dentro da faixa aceitável sugerida por Qian & Jackson,³² onde 80% dos compostos analisados devem apresentar recuperação entre 40 e 140%.

Os valores de recuperação encontrados são compatíveis com aqueles reportados por outros trabalhos. Damas *et al.*¹² verificou valores de 65,1 a 105,6% para AHs. Em Freitas³³, a recuperação foi de 67,6 a 139% para AHs. Martins *et al.*²⁵ apresentou recuperações de 45 a 120% para AHs e de 41 a 125% para OLs. Para esteróis foram verificados valores de 50 a 120% em Kawakami & Montone¹⁶ enquanto que Carreira *et al.*³⁴ apresentou o valor médio encontrado de $80,1 \pm 13,2\%$. Ainda, Carreira *et al.*³⁵ apresentou valores médios de recuperação de $99 \pm 18\%$ para OLs e $76 \pm 15\%$ para ALCs.

Limite de detecção do método

O limite de detecção do método (LDM) consiste na concentração mínima de uma substância que pode ser determinada pelo método com 99% de confiança em uma matriz.³⁰ Uma das maneiras de calcular o limite de detecção é através do desvio padrão (DP) de, no mínimo, cinco replicatas da mesma amostra ($LDM = 3 \times DP$).

O cálculo do LDM levou em conta as amostras adicionadas de padrões externos, utilizadas no teste de matrizes fortificadas. Para os compostos que são analisados, mas que não se dispõem de padrões, foi considerado o LDM de um composto com estrutura química semelhante (por exemplo, número de carbonos), e presente na amostra.

A partir destes cálculos, o LDM para os n-alcanos e isoprenóides presentes na F1 foi estabelecido entre $0,004 \mu\text{g.g}^{-1}$ (n-C₂₆) e $0,012 \mu\text{g.g}^{-1}$ (n-C₁₆), com valor médio de $0,007 \pm 0,002 \mu\text{g.g}^{-1}$ (Tabela 10S).

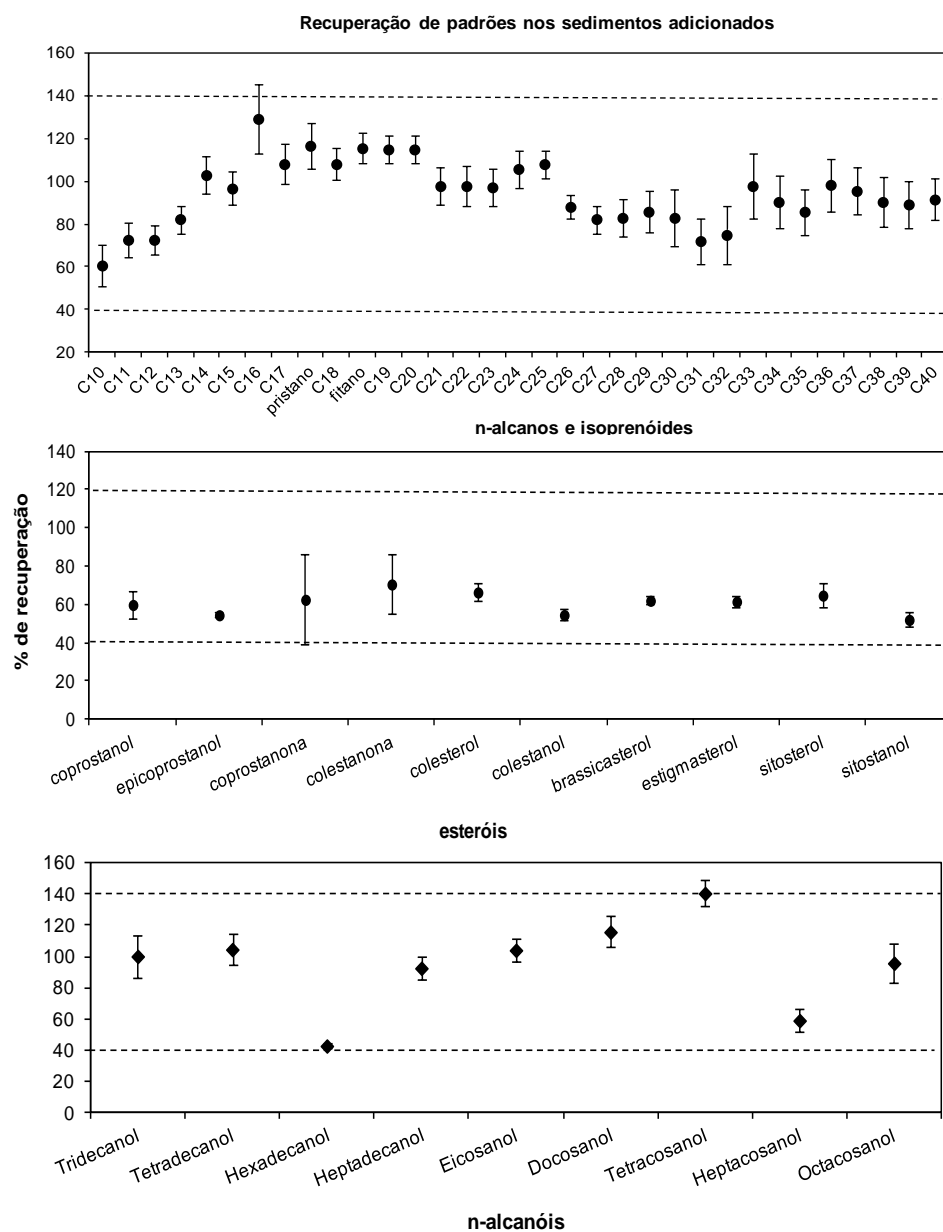


Figura 4. Gráfico da recuperação de padrões externos nos sedimentos adicionados, para hidrocarbonetos alifáticos, esteróis e cetonas e *n*-alcenóis.

Para os OLs (F3), o valor do limite de detecção variou de $0,002 \mu\text{g.g}^{-1}$ (5β -colestano- 3α -ol e 24-metil-colesta- $5,22\text{E}$ -dien- 3β -ol) até $0,006 \mu\text{g.g}^{-1}$ (5β -colestano- 3β -ol, colest- 5 -en- 3β -ol e 24-etil-colest- 5 -en- 3β -ol), sendo a média de $0,005 \pm 0,002 \mu\text{g.g}^{-1}$ (Tabela 11S), enquanto para os ALC (F3), os valores ficaram entre $0,011 \mu\text{g.g}^{-1}$ (n-

C₁₄OH, n-C₁₇OH, n-C₂₀OH e n-C₂₄OH) e 0,020 µg.g⁻¹ (n-C₁₆OH), com média de 0,018 ± 0,007 µg.g⁻¹ (Tabela 12S).

Os valores de LDM obtidos nesse trabalho são compatíveis com aqueles reportados por outros trabalhos. Damas *et al.*¹² encontrou valores variando entre 0,019 a 0,036 µg.g⁻¹ para AHs; enquanto que Freitas³³ verificou valores entre 0,001 a 0,006 µg.g⁻¹ para AHs. Já Martins *et al.*²⁵ apresentou o valor médio de 0,001 µg.g⁻¹ para Ahs e 0,01 µg.g⁻¹ para OLs.

Branco de Extração

Para análise de possíveis interferências externas nos procedimentos de laboratório, foi feito um branco de extração para cada grupo de aproximadamente nove amostras extraídas, utilizando 20 g de sulfato de sódio, que foi analisado da mesma maneira que as amostras.

Em nenhuma das frações extraídas foram observados compostos com concentração maior que três vezes o valor do limite de detecção, enquadrando-se no critério estabelecido (Figura 1S). Entretanto, no branco de ALCs, o n-C₂₂OH apresentou valores fora da faixa aceitável, sendo identificada uma contaminação por ftalato. Assim, apenas o n-C₂₂OH foi excluído dos resultados e não considerado nas discussões desse trabalho.

ANÁLISE DE AMOSTRAS DE SEDIMENTOS MARINHOS

Uma vez que o método analítico foi validado, o procedimento foi então aplicado em sedimentos marinhos, oriundos da região Antártica. Como a principal alteração do método ocorreu na obtenção da F3, esta seção apresentará apenas os resultados de OLs e ALCs.

As amostras de sedimentos foram obtidas de um testemunho (tubos de alumínio com 25 mm de diâmetro) coletado em Ponta Barrel (62°10,274'S; 58°35,504'W), em

uma profundidade aproximada de 20 a 30 metros, localizado na porção mais interior da Enseada Ezcurra (Baía do Almirantado, Península Antártica) (Figura 2S), local distante das principais atividades antrópicas desenvolvidas na região. A coluna sedimentar coletada possui 17 cm de profundidade, sendo subdividida em seções de 1 cm.

Esteróis, n-alcanóis e fitol

A recuperação para a F3 (OLs e ALCs) foi de $101,1 \pm 29,6\%$. Foram identificados 15 esteróis (5β -colestano- 3β -ol, 5β -colestano- 3α -ol, colestano- $5,22E$ -dien- 3β -ol, colestano- $22E$ -en- 3β -ol, colestano- 5 -en- 3β -ol, 5α -colestano- 3β -ol, 24-metil-colestano- $5,22E$ -dien- 3β -ol, 24-metil-colestano- $22E$ -en- 3β -ol, 24-metil-colestano- 5 -en- 3β -ol, 24-metil-colestano- 3β -ol, 24-etil-colestano- $5,22E$ -dien- 3β -ol, 24-etil-colestano- $22E$ -en- 3β -ol, 24-etil-colestano- 5 -en- 3β -ol, 24-etil-colestano- 3β -ol e $4\alpha,23,24$ -trimetil-colestano- $22E$ -en- 3β -ol), e como observado no cromatograma (Figura 3S), todos os compostos foram bem resolvidos, e apresentam distribuição e abundância já observadas em amostras de sedimentos marinhos dessa região.^{22,36}

A concentração máxima dos OLs totais foi de $14,65 \mu\text{g.g}^{-1}$, com média de $1,47 \pm 0,40 \mu\text{g.g}^{-1}$ (Tabela 13S). Colestano- 5 -en- 3β -ol foi o esteroide mais abundante neste testemunho, resultado verificado em outros estudos na região antártica,^{37,22,38} uma vez que esse composto é abundante em sistemas marinhos devido à sua distribuição no plâncton marinho.^{39,40} Além dessa fonte, animais superiores como aves e mamíferos marinhos também são uma importante fonte desse composto para os sedimentos na região antártica.⁴¹

A distribuição dos esteróis ressalta a contribuição de organismos do fito e do zooplâncton, com predomínio do colestano- 5 -en- 3β -ol, e com a presença de 24-etil-colestano- 5 -en- 3β -ol, 24-etil-colestano- $5,22E$ -dien- 3β -ol, 24-metil-colestano- $5,22E$ -dien- 3β -ol e $4\alpha,23,24$ -trimetil-colestano- $22E$ -en- 3β -ol indicando que cianobactérias, diatomáceas,

algas primnesiófitas e dinoflagelados compõem os principais contribuintes da matéria orgânica na região.

O cromatograma dos ALCs (Figura 4S) também apresenta os compostos bem resolvidos, sendo identificados 15 compostos (n-C₁₂OH; n-C₁₃OH, n-C₁₄OH, n-C₁₅OH, n-C₁₆OH, n-C₁₇OH, n-C₁₈OH, n-C₁₉OH, n-C₂₀OH, n-C₂₄OH, n-C₂₆OH, n-C₂₇OH, n-C₂₈OH e n-C₃₀OH).

A concentração dos n-alcanóis totais foi de 2,79 µg.g⁻¹, com média de 0,31 ± 0,11 µg.g⁻¹ (Tabela 14S). A distribuição observada é tipicamente marinha, com predomínio dos ALCs leves (C₁₂ a C₂₂), enquanto as concentrações dos ALCs pesados (C₂₄ a C₃₀) estiveram próximas ou abaixo do LDM. Essa distribuição é esperada para a região antártica, onde a ausência de plantas superiores limita a contribuição de compostos oriundos de plantas, líquens e musgos.⁴²

Fitol, composto formado a partir da degradação da clorofila-*a*,³ esteve presente em todas as seções do testemunho. Esse composto geralmente aparece como o principal álcool no ambiente Antártico, e uma vez que é encontrado de maneira ubíqua em plantas, tem sido empregado como um marcador de vegetação.⁴³ Especificamente neste caso, reflete contribuições de plantas da região, como musgos, algas e plantas vasculares, embora em quantidades não significativas.

Os perfis verticais tanto de ALCs como de OLs totais são similares, com exceção dos ALCs pesados que apresentaram concentrações próximas ou abaixo do LDM. De maneira geral, houve variações nas concentrações dos ALCs leves e OLs totais com a profundidade, sendo possível verificar as concentrações mais elevadas entre as profundidades de 10-11 cm, possivelmente associadas a um evento natural que favoreceu a produção de matéria orgânica pelos organismos anteriormente citados, ou

ainda, condições físico-químicas favoráveis a preservação da matéria orgânica sedimentar.

O fitol apresentou um perfil mais regular, com variações pouco significativas ao longo do tempo, sugerindo um aporte constante desse composto ao longo do período deposicional. O perfil do fitol com a profundidade também pode ser reflexo de processos de degradação da matéria orgânica, sendo observadas maiores concentrações nos sedimentos mais recentes, próximos a superfície, diminuindo a concentração em direção aos sedimentos mais antigos, localizados na base do testemunho.⁴⁴

CONCLUSÕES

O método analítico testado foi considerado satisfatório para análise de múltiplos marcadores orgânicos geoquímicos (hidrocarbonetos alifáticos, esteróis e n-alcanóis) em sedimentos marinhos. O processo de *clean up* mostrou-se eficiente na separação de todas as frações e classes de marcadores, inclusive na fração 3, nova etapa incluída no processo. Com as alterações realizadas é possível obter em uma única extração, as principais classes de compostos utilizados em trabalhos de geoquímica orgânica marinha, colaborando com os estudos da matéria orgânica e contaminação ambiental. A otimização e avaliação de métodos analíticos são essenciais para proporcionar bons resultados analíticos e reduzir consumo de material, especialmente em estudos de monitoramento ambiental, que envolvem grande número de amostras.

A aplicação em amostras de sedimentos marinhos trouxe resultados similares aos obtidos em outros trabalhos, indicando a alta contribuição dos organismos marinhos, principalmente do fito e zooplâncton, e a contribuição pouco significativa de plantas, indicando, portanto, que o método analítico empregado resolve de maneira adequada os componentes de amostras ambientais.

REFERENCIAS

1. Colombo, J. C.; Pelletier, E.; Brochu, C.; Khalil, M.; Catoggio, J. A. *Environ. Sci. Technol.* **1989**, 23, 888.
2. Carreira, R. S.; Wagener, A. L. R.; Readman, J. W.; *Estuar. Coast. Shelf Sci.* **2004**, 60, 587.
3. Volkman, J. K.; Revill, A. T.; Holdsworth, D. G.; Fredericks, D.; *Org. Geochem.* **2008**, 39, 689.
4. Garcia, M. R.; Mirlean, N.; Baisch, P. R.; Camarão, E. B.; *Environ. Monit. Assess.* **2010**, 168, 269.
5. Amorri, J.; Rodier, C. G.; Boufahja, F.; Mahmoudi, E.; Aïssa, P.; Ksibi, M.; Amblès, A.; *Environ. Sci. Pollut. Res.* **2011**, 18, 1606.
6. Laureillard, J.; Saliot, A. *Mar. Chem.* **1993**, 43, 247.
7. Belicka, L.L., Macdonald, R.W., Harvey, H.R. *Mar. Chem.* **2009**, 115, 72.
8. Pancost, R. D.; Boot, C. S.; Aloisi, G.; Maslim, M.; Bickers, C.; Ettwein, V.; Bale, N.; Handley, L.; *Palaeogeogr. Palaeocl.* **2009**, 280, 119.
9. Faux, J.F.; Belicka, L.L.; Harvey, H.R.; *Cont. Shelf Res.* **2011**, 31, 1169.
10. Mzoughi, N.; Hellal, F.; Dachraoui, M.; Villeneuve, J-P.; Cattini, C.; Mora, S. J.; Abed, A.; *C. R. Geoscience*, **2002**, 334, 893.
11. Helaleh, M. I. H.; Al-Omair, A.; Nisar, A.; Gevao, B.. *J. Chromatogr. A.* **2005**, 1083, 153.
12. Damas, E. Y. C.; Medina, M. O. C.; Clemente, A. C. N.; Díaz, M. Á.; Bravo, L. G.; Ramada, R. M.; Porto, R. M. O.; *Quim. Nova.* **2009**, 32 (4), 855.
13. Cavalcante; R. M.; Lima, D. M.; Correia, L. M.; Nascimento, R. F.; Silveira, E. R.; Freire, G. S .S; Viana, R. B.; *Quim. Nova.* **2008**, 31 (6), 1371.

14. Readman, J. W.; Preston, M. R.; Mantoura, R. F. C.; *Mar. Pollut. Bull.* **1986**, 17 (7), 298.
15. Hawthorne, S. B.; Grabanski, C. B.; Martin, E.; Miller, D. J.; *J. Chromatogr. A*, **2000**, 892: 421.
16. Kawakami, S. K.; Montone, R. C.; *J. Braz. Chem. Soc.* **2002**, 13, 226.
17. Burns, K. A.; Codi, S.; Pratt, C.; Duke, N.C.; *Org. Geochem*, **1999**, 30, 1273.
18. Ramos, L.; Vreuls, J.J.; Brinkman, U.A.Th.; *J. Chromatogr. A*. **2000**, 891, 275.
19. Basheer, C.; Obbard, J. P.; Lee, H. K.; *J. Chromatogr. A.*, **2005**, 1068, 221.
20. Grimalti, J. O.; Fernández, P.; Bayona, J. M.; Albalgés, J.; *Environ. Sci. Technol.* **1990**, 24 (3), 357.
21. UNEP (United Nations Environment Programme). **1992**, 97.
22. Martins, C. C.; Venkatesan, M. I.; Montone, R. C.; *Antarct. Sci.* **2002**, 14 (3), 244.
23. Martins, C.C.; Bícigo, M.C.; Taniguchi, S.; Montone, R.C.; *Antarct. Sci.* **2004**, 16 (2), 117.
24. Muniz, P.; Pires-Vanin, A. M. S.; Martins, C. C.; *Mar. Pollut. Bull.* **2006**, 52, 1090.
25. Martins, C.C., Bícigo, M. C., Figueira, R.C.L., Angelli, J.L.F., Combi, T., Gallice, W.C., Mansur, A.V., Nardes, E., Rocha, M.L., Wisnieski, E., Ceschim, L.M.M., Ribeiro, A.P. *Sci. Total Environ.* **2012**, 417-418, 158.
26. USEPA. Method 3540. Soxhlet Extraction. CD-ROM. Revision 3, **1996**, 1-8.
27. USEPA. Method 3640. Gel-Permeation *Clean up*. CD-ROM. Revision 1, **1994**, 2-24.
28. Martins, C. C.; Tese de Doutorado, Universidade de São Paulo, São Paulo, SP. 2005.
29. Denoux, G. J.; Gardinali, P.; Wade, T. L.; *NOAA Technical Memorandum NOS ORCA, Rockville*, **1998**, 130, 129.

30. Wade, T.L.; Cantillo, A.Y.; *IGOSS Plan and Implementation Programme 1996-2003. IOC Technical Series 43*, **1996**, UNESCO.
31. Villeneuve J.-P.; Mora S. J.; Cattini C.; IAEA, Monaco, **2002**.
32. Qian, Y.; Jackson, T.. (RSOP-9725): **1997**, 1.
33. Freitas, F.S. Dissertação de mestrado, Universidade de São Paulo, Brasil, 2011.
34. Carreira, R.S., Ribeiro, P.V, Silva, C.E.M., Farias. C.O. *Quím. Nova*, **2009**, 32, 7, 1805-1811.
35. Carreira, R.S., Araújo, M.P., Costa, T.L.F., Spörl, G., Knoppers, B.A. *Mar. Chem.* **2011**, 127, 1–11.
36. Huang, J.; Liguang, S.; Wang, X.; Wang, Y.; Huang, T.; *J. Environ. Sci.* **2011**, 23(9), 1431.
37. Green, G., Nichols, P.D.. *Antarct. Sci.* **1995**, 7, 137.
38. Martins, C.C., Montone, R.C., Gamba, R.C., Pellizari, V.H. *Braz J. Oceanogr.* **2005**, 53 (1/2), 1.
39. Volkman, J.K. *Org. Geochem.* **2005**. 36, 139.
40. Martins, C.C., Montone, R.C., Fillmann, G. *J. Braz. Chem. Soc.* **2007**, 18, 106.
41. Venkatesan, M.I., Santiago, C.A. *Mar. Biol.* **1989**, 102, 431.
42. Wang, J.; Wang, Y.; Wang, X.; Sun, L.; *Polar Biol.* **2007**, 30, 1475.
43. Huang, J.; Sun, L.; Huang, W.; Wang, X.; Wang, Y.; *Polar Biol.* **2010**, 33, 1399.
44. Rontani, J. F.; Volkman, J. K.; *Org. Geochem.* **2003**., 34, 1.
45. Volkman, J.K., Holdworth, D.G., Neill, G.P., Bavor Jr., H.J. *Sci. Total Environ.* **1992**, 112, 203–219.

MATERIAL SUPLEMENTAR

TABELA 1S. CONCENTRAÇÃO DOS N-ALCANOS E ISOPRENÓIDES (EM $\mu\text{g.g}^{-1}$) NAS CINCO RÉPLICAS ANÁLISADAS, COM A MÉDIA, DESVIO PADRÃO (DP) E DESVIO PADRÃO RELATIVO (DPR).

< LDM: abaixo do Limite de Detecção do Método ($<0,007 \pm 0,002 \mu\text{g.g}^{-1}$).

nc: não calculado

	Rep.1	Rep.2	Rep.3	Rep.4	Rep.5	Média	DP	DPR
n-C ₁₀	<LDM	<LDM	<LDM	<LDM	<LDM	nc	nc	nc
n-C ₁₁	<LDM	<LDM	<LDM	<LDM	<LDM	nc	nc	nc
n-C ₁₂	<LDM	<LDM	<LDM	<LDM	<LDM	nc	nc	nc
n-C ₁₃	0,002	0,002	0,004	0,004	0,004	0,003	0,001	30,6
n-C ₁₄	0,011	0,011	0,018	0,017	0,017	0,015	0,003	21,1
n-C ₁₅	0,053	0,052	0,083	0,078	0,078	0,069	0,013	19,5
n-C ₁₆	0,027	0,027	0,044	0,042	0,043	0,037	0,008	21,5
n-C ₁₇	0,087	0,087	0,133	0,126	0,126	0,112	0,020	18,3
pristano	0,040	0,039	0,063	0,061	0,063	0,053	0,011	21,1
n-C ₁₈	0,035	0,033	0,057	0,056	0,056	0,047	0,011	23,1
fitano	0,035	0,033	0,052	0,051	0,050	0,044	0,008	19,0
n-C ₁₉	0,036	0,035	0,058	0,057	0,057	0,049	0,011	22,0
n-C ₂₀	0,021	0,019	0,036	0,036	0,034	0,029	0,008	25,9
n-C ₂₁	0,032	0,032	0,051	0,052	0,049	0,043	0,009	21,3
n-C ₂₂	0,026	0,026	0,044	0,042	0,042	0,036	0,008	22,8
n-C ₂₃	0,033	0,035	0,048	0,048	0,048	0,042	0,007	16,2
n-C ₂₄	0,019	0,020	0,032	0,031	0,028	0,026	0,005	21,1
n-C ₂₅	0,114	0,119	0,155	0,155	0,107	0,130	0,021	16,0
n-C ₂₆	0,041	0,041	0,069	0,047	0,051	0,050	0,010	20,7
n-C ₂₇	0,149	0,150	0,222	0,175	0,184	0,176	0,027	15,2
n-C ₂₈	0,110	0,106	0,176	0,124	0,139	0,131	0,025	19,3
n-C ₂₉	0,307	0,318	0,428	0,403	0,409	0,373	0,050	13,5
n-C ₃₀	0,085	0,083	0,146	0,107	0,112	0,107	0,023	21,4
n-C ₃₁	0,162	0,184	0,257	0,235	0,247	0,217	0,037	17,2
n-C ₃₂	0,044	0,051	0,084	0,059	0,071	0,062	0,014	23,1
n-C ₃₃	0,102	0,111	0,153	0,146	0,158	0,134	0,023	17,1
n-C ₃₄	0,032	0,044	0,062	0,058	0,059	0,051	0,011	22,3
n-C ₃₅	0,039	0,042	0,069	0,071	0,067	0,058	0,014	24,4
n-C ₃₆	0,016	0,023	0,032	0,022	0,029	0,024	0,006	23,0
n-C ₃₇	0,003	0,006	0,015	0,007	0,010	0,008	0,004	49,6
n-C ₃₈	0,010	0,017	0,011	0,011	0,018	0,013	0,003	25,2
n-C ₃₉	0,006	0,008	0,008	0,006	0,007	0,007	0,001	12,8
n-C ₄₀	0,002	0,002	0,005	0,001	0,002	0,002	0,001	56,5

TABELA 2S. CONCENTRAÇÃO DOS ESTERÓIS (EM $\mu\text{g.g}^{-1}$) NAS CINCO RÉPLICAS ANÁLISADAS, COM A MÉDIA, DESVIO PADRÃO (DP) E DESVIO PADRÃO RELATIVO (DPR).

< LDM: abaixo do Limite de Detecção do Método ($<0,007 \pm 0,003 \mu\text{g.g}^{-1}$).

	Rep.1	Rep.2	Rep.3	Rep.4	Rep.5	Média	DP	DPR
5 β -colestano-3 β -ol	1,73	1,75	2,07	2,04	2,42	2,00	0,25	12,6
5 β -colestano-3 α -ol	0,06	0,05	0,07	0,06	0,08	0,06	0,01	15,9
colestano-5,22E-dien-3 β -ol	0,22	0,22	0,27	0,26	0,29	0,25	0,03	11,1
colestano-22E-en-3 β -ol	0,04	0,03	0,03	0,04	0,04	0,04	0,003	13,6
colestano-5-en-3 β -ol	1,97	1,96	2,29	2,25	2,57	2,21	0,23	10,3
5 α -colestano-3 β -ol	0,44	0,44	0,52	0,52	0,58	0,50	0,05	10,7
24-metil-colestano-5,22E-dien-3 β -ol	1,00	0,91	1,09	1,06	1,19	1,05	0,09	8,9

24-metil-colesta-22E-en-3 β -ol	0,19	0,20	0,22	0,21	0,23	0,21	0,01	6,7
24-metil-colest-5-en-3 β -ol	0,39	0,40	0,45	0,50	0,52	0,45	0,05	11,5
24-metil-colestan-3 β -ol	0,11	0,11	0,14	0,15	0,18	0,14	0,03	19,1
24-etil-colesta-5,22E-dien-3 β -ol	0,72	0,69	0,85	0,84	0,94	0,81	0,09	11,3
24-etil-colesta-22E-en-3 β -ol	0,22	0,21	0,25	0,23	0,28	0,24	0,02	10,4
24-etil-colest-5-en-3 β -ol	1,56	1,55	1,84	1,77	2,00	1,74	0,17	9,8
24-etil-colestan-3 β -ol	0,28	0,29	0,34	0,35	0,34	0,32	0,03	9,1
4 α ,23,24-trimetil-colesta-22E-en-3 β -ol	1,20	1,21	1,13	1,35	1,45	1,27	0,12	9,1

TABELA 3S. CONCENTRAÇÃO DOS N-ALCANÓIS (EM $\mu\text{g.g}^{-1}$) EM QUATRO DAS CINCO RÉPLICAS ANÁLISADAS, COM A MÉDIA, DESVIO PADRÃO (DP) E DESVIO PADRÃO RELATIVO (DPR).

< LDM: abaixo do Limite de Detecção do Método ($<0,018 \pm 0,007 \mu\text{g.g}^{-1}$).

nc: não calculado

	Rep.1	Rep.3	Rep.4	Rep.5	Média	DP	DPR
n-C ₁₂ OH	0,01	0,01	0,01	0,01	0,01	0,00	0,00
n-C ₁₃ OH	0,02	0,02	0,02	0,02	0,02	0,00	0,00
n-C ₁₄ OH	0,15	0,20	0,19	0,21	0,19	0,02	10,5
n-C ₁₅ OH	0,28	0,35	0,36	0,38	0,34	0,04	11,8
n-C ₁₆ OH	0,80	1,06	1,02	1,10	1,00	0,12	12,0
n-C ₁₇ OH	0,14	0,18	0,18	0,20	0,18	0,02	11,1
n-C ₁₈ OH	0,23	0,35	0,30	0,32	0,30	0,04	13,3
n-C ₁₉ OH	0,02	0,03	0,03	0,03	0,03	0,004	15,7
n-C ₂₀ OH	0,05	0,05	0,05	0,05	0,05	0,00	0,00
n-C ₂₄ OH	0,16	0,18	0,17	0,18	0,17	0,01	5,9
n-C ₂₆ OH	<LDM	<LDM	<LDM	<LDM	nc	nc	nc
n-C ₂₇ OH	<LDM	<LDM	<LDM	<LDM	nc	nc	nc
n-C ₂₈ OH	1,00	1,02	1,16	1,20	1,10	0,09	8,2
n-C ₃₀ OH	1,46	1,50	1,66	1,78	1,60	0,13	8,1

TABELA 4S. TABELA COM AS CONCENTRAÇÕES DE ESTERÓIS (EM $\mu\text{g.g}^{-1}$) OBTIDAS COM OS DOIS MÉTODOS DISTINTOS, COM A MÉDIA, DESVIO PADRÃO (DP) E DESVIO PADRÃO RELATIVO (DPR).

*Método 1: Kawakami & Montone (2002).¹⁶

**Método 2: Novo método após modificações baseadas nos teste aplicados.

*** colesta-5,22E-dien-3 β -ol , colesta-22E-en-3 β -ol, coprostanona e colestanona não foram analisados.

O valor sublinhado indica desvio padrão relativo superior a 25%.

	Método 1*	Método 2**	Média	DP	DPR
5 β -colestan-3 β -ol	1,83	2,00	1,92	0,09	4,4
5 β -colestan-3 α -ol	0,08	0,06	0,07	0,01	14,3
colest-5-en-3 β -ol	1,96	2,21	2,09	0,13	6,0
5 α -colestan-3 β -ol	0,45	0,50	0,48	0,03	5,3
24-metil-colesta-5,22E-dien-3 β -ol	1,09	1,05	1,07	0,02	1,9
24-metil-colesta-22E-en-3 β -ol	0,29	0,21	0,25	0,04	16,0
24-metil-colest-5-en-3 β -ol	0,57	0,45	0,51	0,06	11,8
24-metil-colestan-3 β -ol	0,21	0,14	0,18	0,04	20,0
24-etil-colesta-5,22E-dien-3 β -ol	0,84	0,81	0,83	0,02	1,8

24-etil-colesta-22E-en-3β-ol	0,76	0,24	0,50	0,26	<u>52,0</u>
24-etil-colest-5-en-3β-ol	2,02	1,74	1,88	0,14	7,4
24-etil-colestan-3β-ol	0,24	0,32	0,28	0,04	14,3
4α,23,24-trimetil-colesta-22E-en-3β-ol	1,23	1,27	1,25	0,02	1,6

TABELA 5S. MÉDIA, DESVIO PADRÃO (DP) E FAIXA DE VALORES ACEITÁVEIS DO MATERIAL DE REFERENCIA IAEA-417 E OS OBTIDOS NESTE TRABALHO (EM ng.g⁻¹).

*valores obtidos neste trabalho.

MCNR = Mistura complexa não resolvida.⁴⁵

	Média-IAEA	DP	Faixa - IAEA	IAEA-417*
n-C₁₇	0,200	0,140	0,060 – 0,340	0,260
n-C₁₈	0,230	0,200	0,030 – 0,430	0,053
pristano	0,420	0,630	0 – 1,050	0,195
fitano	0,370	0,330	0,040 – 0,700	0,206
Alcanos Totais	9,500	6,800	2,700 – 16,300	11,531
Alifáticos Resolvidos	14,00	5,20	8,80 – 19,20	13,25
MCNR	230,0	190,0	40,0 – 420,0	341,8

TABELA 6S. MÉDIA, DESVIO PADRÃO (DP) E FAIXA DE VALORES ACEITÁVEIS DO MATERIAL DE REFERENCIA IAEA-408 E OS OBTIDOS NESTE TRABALHO (EM ng.g⁻¹).

* valores obtidos neste trabalho.

	Média IAEA	DP	Faixa-IAEA	IAEA-408*
5β-colestan-3β-ol	1,90	1,70	0.20 - 3.60	2,52
colest-5-en-3β-ol	0,91	0,67	0.24 - 1.58	0,79
5α-colestan-3β-ol	1,10	0,76	0.34 - 1.86	1,82
24-etil-colesta-5,22E-dien-3β-ol	0,21	0,01	0.20 - 0.22	0,48
24-etil-colest-5-en-3β-ol	1,10	0,64	0.46 - 1.74	1,42

TABELA 7S. VALORES DE RECUPERAÇÃO (%) DO PADRÃO SUB-ROGADO DAS CINCO AMOSTRAS DE SEDIMENTO, MÉDIA E DESVIO PADRÃO (DP) PARA OS COMPOSTOS DE F1 (N-ALCANOS E ISOPRENÓIDES).

	Rep.1	Rep.2	Rep.3	Rep.4	Rep.5	Rep.6	Rep.7	Média	DP
C10	52,0	64,0	56,0	80,0	60,0	52,0	60,0	60,6	9,6
C11	64,0	76,0	72,0	88,0	72,0	64,0	72,0	72,6	8,1
C12	68,0	80,0	68,0	84,0	72,0	64,0	72,0	72,6	7,1
C13	80,0	88,0	80,0	92,0	80,0	72,0	84,0	82,3	6,5
C14	88,0	112,0	96,0	104,0	104,0	104,0	112,0	102,9	8,6
C15	96,0	104,0	92,0	96,0	96,0	84,0	108,0	96,6	7,8
C16	100,0	148,0	128,0	128,0	124,0	128,0	148,0	129,1	16,3
C17	100,0	116,0	120,0	104,0	104,0	96,0	116,0	108,0	9,2
pristano	108,0	128,0	124,0	108,0	108,0	108,0	132,0	116,6	10,9
C18	96,0	112,0	112,0	112,0	108,0	100,0	116,0	108,0	7,3
fitano	104,0	120,0	124,0	116,0	116,0	108,0	120,0	115,4	7,1
C19	104,0	116,0	120,0	112,0	116,0	112,0	124,0	114,9	6,4
C20	104,0	116,0	120,0	112,0	116,0	112,0	124,0	114,9	6,4

C21	92,0	104,0	96,0	100,0	96,0	84,0	112,0	97,7	8,9
C22	96,0	100,0	96,0	100,0	100,0	80,0	112,0	97,7	9,5
C23	96,0	104,0	92,0	96,0	96,0	84,0	112,0	97,1	8,9
C24	104,0	108,0	112,0	108,0	104,0	88,0	116,0	105,7	8,9
C25	104,0	108,0	112,0	108,0	116,0	96,0	112,0	108,0	6,5
C26	80,0	88,0	92,0	96,0	84,0	84,0	92,0	88,0	5,7
C27	72,0	84,0	88,0	88,0	88,0	76,0	80,0	82,3	6,5
C28	68,0	88,0	92,0	92,0	84,0	80,0	76,0	82,9	8,9
C29	72,0	88,0	96,0	96,0	92,0	80,0	76,0	85,7	9,8
C30	68,0	88,0	96,0	96,0	92,0	76,0	64,0	82,9	13,4
C31	60,0	76,0	84,0	80,0	80,0	68,0	56,0	72,0	10,8
C32	60,0	76,0	88,0	92,0	80,0	72,0	56,0	74,9	13,4
C33	84,0	104,0	116,0	116,0	96,0	92,0	76,0	97,7	15,3
C34	80,0	92,0	100,0	104,0	96,0	92,0	68,0	90,3	12,4
C35	80,0	92,0	100,0	92,0	88,0	80,0	68,0	85,7	10,5
C36	88,0	104,0	120,0	104,0	96,0	92,0	84,0	98,3	12,2
C37	84,0	92,0	116,0	104,0	92,0	92,0	88,0	95,4	10,9
C38	84,0	92,0	112,0	88,0	84,0	96,0	76,0	90,3	11,5
C39	84,0	80,0	112,0	88,0	92,0	88,0	80,0	89,1	11,0
C40	88,0	84,0	100,0	100,0	84,0	104,0	80,0	91,4	9,6

TABELA 8S. VALORES DE RECUPERAÇÃO (%) DO PADRÃO SUB-ROGADO DAS CINCO AMOSTRAS DE SEDIMENTO, MÉDIA E DESVIO PADRÃO (DP) PARA OS COMPOSTOS DE F3 (ESTERÓIS).

	Rep.2	Rep.3	Rep.4	Rep.5	Rep.6	Rep.7	Média	DP
5 β -colestano-3 β -ol	51,0	56,9	60,8	60,8	72,5	58,8	60,1	7,1
5 β -colestano-3 α -ol	52,4	55,6	55,6	55,6	55,6	54,0	54,8	1,3
colest-5-en-3 β -ol	60,7	63,9	68,9	63,9	73,8	68,9	66,7	4,7
5 α -colestano-3 β -ol	53,2	53,2	53,2	53,2	56,5	59,7	54,8	2,7
24-metil-colesta-5,22E-dien-3 β -ol	62,0	60,0	64,0	60,0	66,0	62,0	62,3	2,3
24-etil-colesta-5,22E-dien-3 β -ol	58,1	61,3	62,9	59,7	62,9	66,1	61,8	2,8
24-etil-colest-5-en-3 β -ol	67,2	60,7	59,0	60,7	75,4	67,2	65,0	6,2
24-etil-colestan-3 β -ol	54,0	50,0	50,0	48,0	54,0	58,0	52,3	3,7

TABELA 9S. VALORES DE RECUPERAÇÃO (%) DO PADRÃO SUB-ROGADO DAS CINCO AMOSTRAS DE SEDIMENTO, MÉDIA E DESVIO PADRÃO (DP) PARA OS COMPOSTOS DE F3 (N-ALCANÓIS).

	Rep.2	Rep.3	Rep.4	Rep.5	Rep.7	Média	DP
n-C ₁₃ OH	100,0	90,0	122,0	88,0	102,0	100,4	13,5
n-C ₁₄ OH	102,0	96,0	120,0	98,0	108,0	104,8	9,7
n-C ₁₆ OH	45,5	40,0	43,6	41,8	43,6	42,9	2,1
n-C ₁₇ OH	88,0	86,0	100,0	88,0	102,0	92,8	7,6
n-C ₂₀ OH	100,0	95,0	111,7	103,3	111,7	104,3	7,3
n-C ₂₂ OH	112,0	104,0	126,0	112,0	126,0	116,0	9,7
n-C ₂₄ OH	132,0	132,0	148,0	144,0	148,0	140,8	8,2
n-C ₂₇ OH	62,0	70,0	50,0	60,0	54,0	59,2	7,7
n-C ₂₈ OH	88,0	96,0	96,0	84,0	116,0	96,0	12,3

TABELA 10S. VALORES DE CONCENTRAÇÃO (EM $\mu\text{g.g}^{-1}$) DAS SETE RÉPLICAS DE SEDIMENTO, DESVIO PADRÃO (DP) E LIMITE DE DETECÇÃO DO MÉTODO (LDM) DE CADA COMPOSTO PARA F1 (N-ALCANOS E ISOPRENÓIDES).

< LDM: abaixo do Limite de Detecção do Método (<0,017 $\mu\text{g.g}^{-1}$).

	Rep.1	Rep.2	Rep.3	Rep.4	Rep.5	Rep.6	Rep.7	DP	LDM
n-C₁₀	0,013	0,016	0,014	0,020	0,015	0,013	0,015	0,002	0,007
n-C₁₁	0,016	0,019	0,018	0,022	0,018	0,016	0,018	0,002	0,006
n-C₁₂	0,017	0,020	0,017	0,021	0,018	0,016	0,018	0,002	0,005
n-C₁₃	0,020	0,022	0,020	0,023	0,020	0,018	0,021	0,002	0,005
n-C₁₄	0,022	0,028	0,024	0,026	0,026	0,026	0,028	0,002	0,006
n-C₁₅	0,024	0,026	0,023	0,024	0,024	0,021	0,027	0,002	0,006
n-C₁₆	0,025	0,037	0,032	0,032	0,031	0,032	0,037	0,004	0,012
n-C₁₇	0,025	0,029	0,030	0,026	0,026	0,024	0,029	0,002	0,007
pristano	0,027	0,032	0,031	0,027	0,027	0,027	0,033	0,003	0,008
n-C₁₈	0,024	0,028	0,028	0,028	0,027	0,025	0,029	0,002	0,005
fitano	0,026	0,030	0,031	0,029	0,029	0,027	0,030	0,002	0,005
n-C₁₉	0,026	0,029	0,030	0,028	0,029	0,028	0,031	0,002	0,005
n-C₂₀	0,026	0,029	0,030	0,028	0,029	0,028	0,031	0,002	0,005
n-C₂₁	0,023	0,026	0,024	0,025	0,024	0,021	0,028	0,002	0,007
n-C₂₂	0,024	0,025	0,024	0,025	0,025	0,020	0,028	0,002	0,007
n-C₂₃	0,024	0,026	0,023	0,024	0,024	0,021	0,028	0,002	0,007
n-C₂₄	0,026	0,027	0,028	0,027	0,026	0,022	0,029	0,002	0,007
n-C₂₅	0,026	0,027	0,028	0,027	0,029	0,024	0,028	0,002	0,005
n-C₂₆	0,020	0,022	0,023	0,024	0,021	0,021	0,023	0,001	0,004
n-C₂₇	0,018	0,021	0,022	0,022	0,022	0,019	0,020	0,002	0,005
n-C₂₈	0,017	0,022	0,023	0,023	0,021	0,020	0,019	0,002	0,007
n-C₂₉	0,018	0,022	0,024	0,024	0,023	0,020	0,019	0,002	0,007
n-C₃₀	0,017	0,022	0,024	0,024	0,023	0,019	0,016	0,003	0,010
n-C₃₁	0,015	0,019	0,021	0,020	0,020	0,017	0,014	0,003	0,008
n-C₃₂	0,015	0,019	0,022	0,023	0,020	0,018	0,014	0,003	0,010
n-C₃₃	0,021	0,026	0,029	0,029	0,024	0,023	0,019	0,004	0,011
n-C₃₄	0,020	0,023	0,025	0,026	0,024	0,023	0,017	0,003	0,009
n-C₃₅	0,020	0,023	0,025	0,023	0,022	0,020	0,017	0,003	0,008
n-C₃₆	0,022	0,026	0,030	0,026	0,024	0,023	0,021	0,003	0,009
n-C₃₇	0,021	0,023	0,029	0,026	0,023	0,023	0,022	0,003	0,008
n-C₃₈	0,021	0,023	0,028	0,022	0,021	0,024	0,019	0,003	0,009
n-C₃₉	0,021	0,020	0,028	0,022	0,023	0,022	0,020	0,003	0,008
n-C₄₀	0,022	0,021	0,025	0,025	0,021	0,026	0,020	0,002	0,007

TABELA 11S. VALORES DE CONCENTRAÇÃO (EM $\mu\text{g.g}^{-1}$) DE SEIS RÉPLICAS DE SEDIMENTO, DESVIO PADRÃO (DP) E LIMITE DE DETECÇÃO DO MÉTODO (LDM) DE CADA COMPOSTO PARA F3 (ESTERÓIS).

< LDM: abaixo do Limite de Detecção do Método (<0,005 $\mu\text{g.g}^{-1}$)

	Rep.2	Rep.3	Rep.4	Rep.5	Rep.6	Rep.7	DP	LDM
5β-colestano-3β-ol	0,026	0,029	0,031	0,031	0,037	0,030	0,002	0,006
5β-colestano-3α-ol	0,033	0,035	0,035	0,035	0,035	0,034	0,001	0,002
colest-5-en-3β-ol	0,037	0,039	0,042	0,039	0,045	0,042	0,003	0,008

5α-colestan-3β-ol	0,033	0,033	0,033	0,033	0,035	0,037	0,003	0,009
24-metil-colesta-5,22E-dien-3β-ol	0,031	0,030	0,032	0,030	0,033	0,031	0,002	0,006
24-etil-colesta-5,22E-dien-3β-ol	0,036	0,038	0,039	0,037	0,039	0,041	0,002	0,005
24-etil-colest-5-en-3β-ol	0,041	0,037	0,036	0,037	0,046	0,041	0,001	0,002
24-etil-colestan-3β-ol	0,027	0,025	0,025	0,024	0,027	0,029	0,002	0,005

TABELA 12S. VALORES DE CONCENTRAÇÃO (EM $\mu\text{g.g}^{-1}$) DE CINCO RÉPLICAS DE SEDIMENTO, DESVIO PADRÃO E LIMITE DE DETECÇÃO INDIVIDUAL DE CADA COMPOSTO PARA F3 (N-ALCANÓIS).

< LDM: abaixo do Limite de Detecção do Método (<0,017 $\mu\text{g.g}^{-1}$)

	Rep.2	Rep.3	Rep.4	Rep.5	Rep.7	DP	LDM
n-C₁₃OH	0,050	0,045	0,061	0,044	0,051	0,007	0,020
n-C₁₄OH	0,051	0,048	0,060	0,049	0,054	0,005	0,014
n-C₁₆OH	0,112	0,110	0,131	0,115	0,134	0,011	0,034
n-C₁₇OH	0,044	0,043	0,050	0,044	0,051	0,004	0,011
n-C₂₀OH	0,060	0,057	0,067	0,062	0,067	0,004	0,013
n-C₂₄OH	0,056	0,052	0,063	0,056	0,063	0,005	0,015
n-C₂₇OH	0,066	0,066	0,074	0,072	0,074	0,004	0,012
n-C₂₈OH	0,148	0,153	0,162	0,158	0,161	0,156	0,018

TABELA 13S. CONCENTRAÇÃO DOS ESTERÓIS (EM $\mu\text{g.g}^{-1}$) AO LONGO DE CADA SEÇÃO (EM cm) DO TESTEMUNHO DE PONTA BARREL.

< LDM: abaixo do Limite de Detecção do Método (<0,005 $\mu\text{g.g}^{-1}$)

	0-1	1-2	2-4	5-6	7-8	10-11	11-12	12-13	13-14	14-16
5β-colestan-3β-ol	0,01	0,01	0,01	0,01	0,01	0,01	0,01	0,00	0,01	0,00
5β-colestan-3α-ol	0,01	0,01	0,01	0,01	0,01	0,01	0,01	0,00	0,01	0,00
colesta-5,22E-dien-3β-ol	0,09	0,11	0,07	0,07	0,12	0,11	0,05	0,06	0,05	0,04
colesta-22E-en-3β-ol	0,03	0,05	0,01	0,03	0,02	0,04	0,03	0,00	0,03	0,02
colest-5-en-3β-ol	0,38	0,52	0,26	0,40	0,72	0,60	0,18	0,19	0,25	0,11
5α-colestan-3β-ol	0,13	0,17	0,06	0,13	0,16	0,15	0,09	0,08	0,09	0,05
24-metil-colesta-5,22E-dien-3β-ol	0,10	0,13	0,17	0,09	0,11	0,20	0,11	0,14	0,10	0,08
24-metil-colesta-22E-en-3β-ol	0,05	0,02	0,05	0,05	0,06	0,15	0,11	0,10	0,08	0,07
24-metil-colest-5-en-3β-ol	0,01	0,02	0,04	0,09	0,07	0,05	0,06	0,04	0,05	0,01
24-metil-colestan-3β-ol	0,01	0,01	0,01	0,01	0,02	0,02	0,02	0,02	0,02	0,02
24-etil-colesta-5,22E-dien-3β-ol	0,07	0,07	0,07	0,11	0,09	0,20	0,14	0,13	0,16	0,11
24-etil-colesta-22E-en-3β-ol	0,02	0,04	0,03	0,04	0,02	0,04	0,04	0,04	0,06	0,05
24-etil-colest-5-en-3β-ol	0,27	0,30	0,23	0,30	0,26	0,31	0,15	0,17	0,18	0,14
24-etil-colestan-3β-ol	0,11	0,12	0,10	0,12	0,15	0,13	0,06	0,07	0,11	0,10
4α,23,24-trimetil-colesta-22E-en-3β-ol	0,13	0,15	0,13	0,15	0,14	0,15	0,10	0,09	0,11	0,11
OLs Totais	1,42	1,73	1,25	1,61	1,96	2,17	1,16	1,13	1,31	0,91

TABELA 14S. CONCENTRAÇÃO DOS N-ALCANÓIS E FITOL (EM $\mu\text{g.g}^{-1}$) AO LONGO DE CADA SEÇÃO (EM cm) DO TESTEMUNHO DE PONTA BARREL.

< LDM: abaixo do Limite de Detecção do Método (<0,017 $\mu\text{g.g}^{-1}$)

	0-1	1-2	2-4	5-6	7-8	10-11	11-12	13-14	14-16
n-C₁₂OH	0,04	<LDM	0,06	0,06	0,05	0,06	0,03	0,04	0,05
n-C₁₃OH	0,04	<LDM	0,03	0,03	0,03	0,04	<LDM	0,02	0,02
n-C₁₄OH	0,07	0,04	0,08	0,07	0,09	0,08	0,04	0,05	0,03
n-C₁₅OH	0,02	0,02	0,02	0,02	0,04	0,02	<LDM	0,03	<LDM
n-C₁₆OH	0,08	0,08	0,09	0,09	0,09	0,09	0,07	0,07	0,06
n-C₁₇OH	<LDM	<LDM	<LDM	<LDM	<LDM	<LDM	<LDM	<LDM	<LDM
n-C₁₈OH	0,05	0,03	0,03	0,03	0,04	0,23	<LDM	0,04	0,03
n-C₁₉OH	0,02	<LDM	<LDM	<LDM	<LDM	<LDM	<LDM	<LDM	<LDM
n-C₂₀OH	0,02	0,02	0,02	0,02	0,03	0,02	0,02	0,02	0,02
n-C₂₄OH	0,02	0,02	<LDM	<LDM	<LDM	<LDM	<LDM	<LDM	<LDM
n-C₂₆OH	<LDM	<LDM	<LDM	<LDM	<LDM	<LDM	<LDM	<LDM	<LDM
n-C₂₇OH	<LDM	0,02	<LDM	<LDM	<LDM	<LDM	<LDM	<LDM	<LDM
n-C₂₈OH	<LDM	<LDM	<LDM	<LDM	<LDM	<LDM	<LDM	<LDM	<LDM
n-C₃₀OH	<LDM	<LDM	<LDM	<LDM	<LDM	<LDM	<LDM	<LDM	<LDM
ALCs Totais	0,36	0,23	0,33	0,32	0,37	0,54	0,16	0,27	0,21
fitol	0,21	0,24	0,19	0,23	0,26	0,23	0,17	0,19	0,18

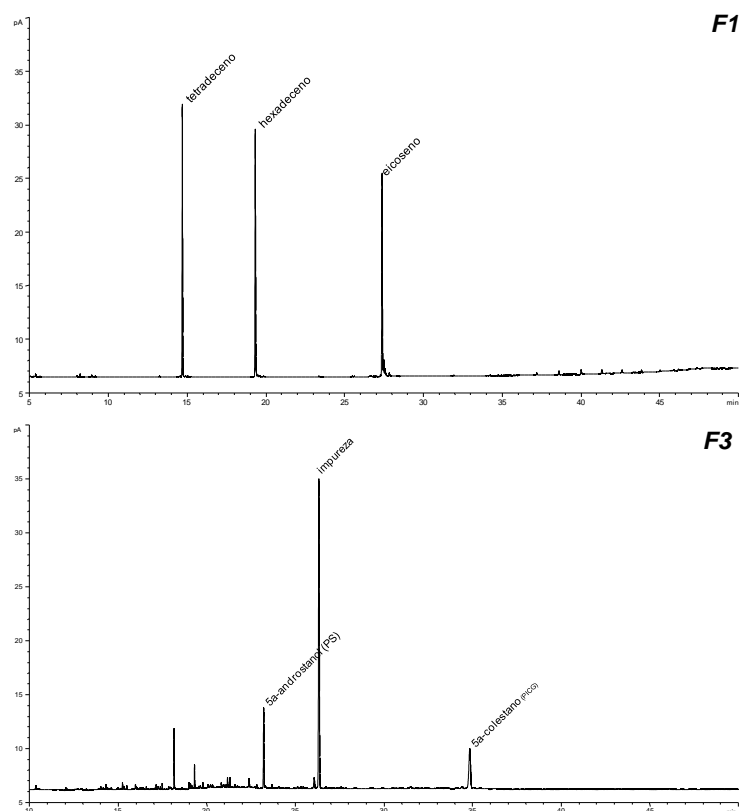


Figura 1S. Cromatogramas dos brancos de extração das frações 1 e 3, indicando a ausência de contaminantes externos, com exceção do ftalato, indicado como impureza no cromatograma F3.

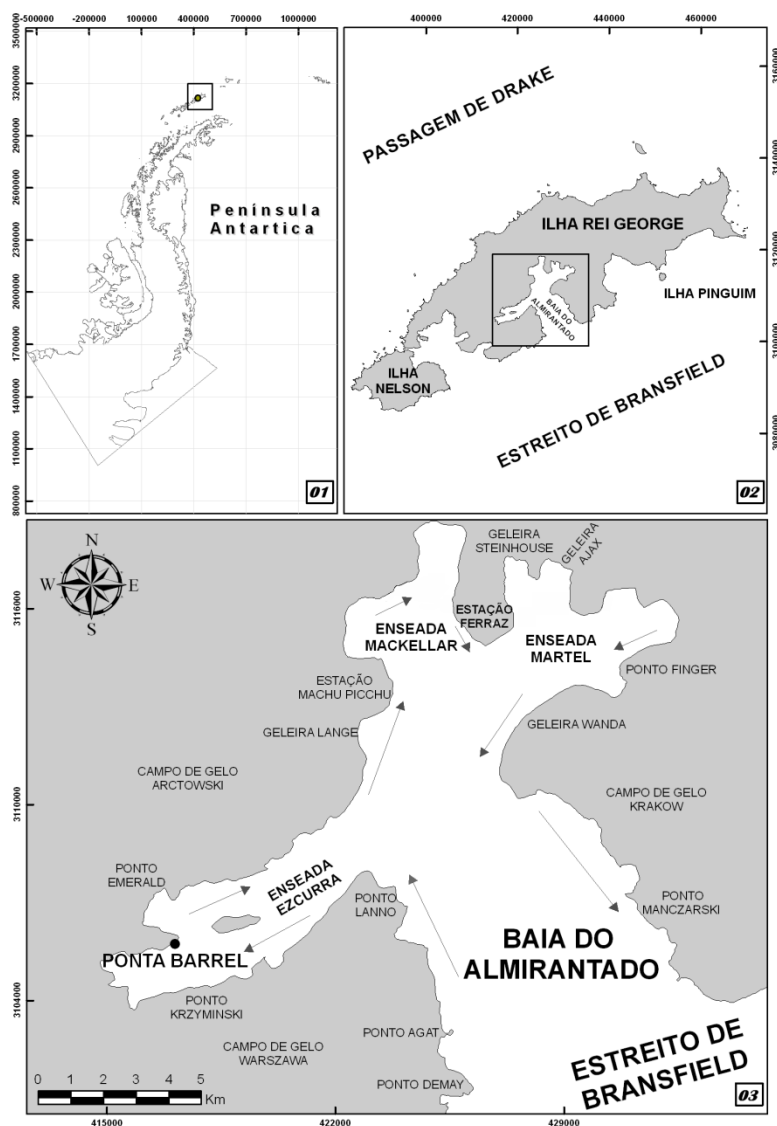


Figura 2S. Localização do ponto onde foi coletado o testemunho Ponta Barrel, na Baía do Almirantado, Ilha Rei George, Península Antártica.

Figura 4S. Cromatograma da F3, com destaque aos n-alcanóis de uma amostra (BAR01) do testemunho de Ponta Barrel. Todos os compostos podem ser identificados.

Capítulo 2

Fontes e variação temporal na entrada de matéria orgânica indicado por n-alcanóis e esteróis em testemunhos de sedimentos da Baía do Almirantado, Antártica.

Sumário

Resumo	49
Introdução.....	50
Material e Métodos.....	52
<i>Área de Estudo</i>	<i>52</i>
<i>Amostragem</i>	<i>53</i>
<i>Procedimento Laboratorial.....</i>	<i>54</i>
<i>Parte instrumental, quantificação e identificação dos compostos</i>	<i>55</i>
<i>Controle de qualidade do método analítico</i>	<i>56</i>
<i>Cálculo da data estimada das seções dos testemunhos</i>	<i>57</i>
Resultados e Discussão.....	57
<i>Concentrações e fontes de esteróis</i>	<i>57</i>
<i>Concentrações e fontes de n-Alcanóis.....</i>	<i>65</i>
<i>Distribuição vertical do Fitol.....</i>	<i>67</i>
<i>Alteração diagenética da matéria orgânica indicada pela razão estanol/estenol</i>	<i>69</i>
<i>Distribuição de marcadores orgânicos em escala temporal e relação com as variações de temperatura</i>	<i>72</i>
Conclusão	79
Referências	80
Material Suplementar	86

Resumo

Esteróis (OLs), n-alcanóis (ALCs) e fitol foram analisados em testemunhos na Baía do Almirantado (Ponta Barrel, Refúgio e Ferraz) através de extração em Soxhlet e injeção em GC-FID. As concentrações de OLs totais variaram de 0,91 a 13,99 $\mu\text{g.g}^{-1}$, dos ALCs totais entre 0,20 a 214 $\mu\text{g.g}^{-1}$ e do fitol de 0,13 a 2,38 $\mu\text{g.g}^{-1}$. Colest-5-en-3 β -ol foi mais abundante nos testemunhos da Baía do Almirantado. 5 β -colestano-3 β -ol e 5 β -colestano-3 α -ol ocorreram em concentrações baixas (<LDM (BAR) a 0,15 $\mu\text{g.g}^{-1}$), abaixo dos valores de *background* da região. A razão estanol/estenol indicou a ocorrência de degradação da matéria orgânica. Os ALCs leves foram mais abundantes, indicando contribuição de algas, bactérias e zooplâncton. Fitol mostrou pouca variação ao longo do perfil, podendo ser reflexo de processos de degradação. FER teve as variações nas concentrações de alguns compostos comparadas com a variação da temperatura média do ar ao longo do tempo. Os resultados parecem indicar para uma tendência de aumento nas concentrações em períodos em que a temperatura média do ar estava mais elevada. Entretanto, os dados obtidos com esse trabalho não são suficientes para permitirem afirmar tal tendência como verdadeira, sendo essa então apenas uma observação, que pode ser confirmada com estudos futuros, focando nesse objetivo, e com ferramentas adequadas e que gerem as informações necessárias.

Palavras-chave: marcadores orgânicos, sedimentos, Península Antártica, fontes de matéria orgânica.

Introdução

A região da Península Antártica é uma das áreas mais preservadas do planeta, constituída de sistemas ecológicos e criosféricos capazes de responder de forma dinâmica a mudanças ambientais ocorridas em escala global (Monien *et al.*, 2011). Essa região é um dos locais que vem aquecendo mais rapidamente no planeta e esse aumento na temperatura tem contribuído para a diminuição das áreas de gelo marinho (Steig *et al.*, 2009). Sendo assim, é importante estabelecer as características ambientais locais e como essas vêm sendo alteradas ao longo do tempo, a fim de compreender como poderão ser as respostas do ambiente em um cenário futuro.

Compostos orgânicos, também denominados marcadores geoquímicos, têm sido extensivamente utilizados para a caracterização de fontes e distribuição de matéria orgânica sedimentar em diferentes ambientes e escalas de tempo (Birgel *et al.*, 2004; Castañeda *et al.*, 2011), devido a possibilidade de serem atribuídos a uma fonte específica e pela capacidade de preservação após a deposição (Gómez-Gutiérrez *et al.*, 2011).

Esteróis e n-alcanóis são marcadores orgânicos presentes na fração polar de extratos lipídicos de sedimentos marinhos, sendo diretamente relacionados a produção primária (Hudson *et al.*, 2001), e essenciais para organismos marinhos, atuando como componentes chave na composição de membranas celulares e na regulação de processos metabólicos específicos (Laureillard *et al.*, 1997). Esses marcadores são empregados na distinção de fontes marinhas e terrestres da matéria orgânica sedimentar através, genericamente, do número de átomos de carbonos na cadeia alifática, e de acordo com os possíveis organismos que atuam como fontes destes compostos (Volkman, 1986; Burns & Brinkman, 2011; Faux *et al.*, 2011).

Particularmente, os esteróis podem ser utilizados na caracterização de aportes de material fecal, através do uso dos compostos 5β -colestano- 3β -ol e 5β -colestano- 3α -ol, produzidos no intestino de mamíferos, incluindo o homem e animais que compõem a fauna antártica como focas e baleias (Venkatesan *et al.*, 1986, Martins *et al.*, 2002; Amorri *et al.*, 2011).

Uma vez que diferentes n-alcanóis e esteróis são sintetizados por determinados grupos de organismos, é possível através dessa relação específica, identificar fontes de matéria orgânica na região. As baixas temperaturas anuais, a presença de sazonalidade definida, a ausência de plantas superiores e a ocorrência de fauna específica são condicionantes ambientais que garantem um alto grau de especificidade entre as fontes de compostos orgânicos e a composição sedimentar da região (Laureillard *et al.*, 1997).

Mudanças na temperatura da água do oceano Austral tem afetado a estrutura de ecossistemas de regiões de plataforma a oeste da Península Antártica, resultando em declínio de espécies co-dependentes de gelo e aumento de espécies tolerantes, alterações na estrutura e composição da comunidade fito e zooplanctônica, abundância e disponibilidade de organismos da base para o topo da cadeia trófica (Ducklow *et al.*, 2007; Montes-Hugo *et al.*, 2009; Schloss *et al.*, 2012).

Considerando a alta susceptibilidade da região da Península Antártica as recentes alterações ambientais em escala temporal, o objetivo desse trabalho foi identificar variações no aporte e no tipo de matéria orgânica sedimentar depositada em sedimentos da Baía do Almirantado, através da determinação de esteróis e n-alcanóis, empregados como indicadores geoquímicos de mudanças ambientais.

Material e Métodos

Área de Estudo

A Baía do Almirantado, localizada na Ilha Rei George (Fig. 1), é o maior *ffjord* das Ilhas Shetlands do Sul com uma área total de 131 km². É formada por um canal principal com mais de 500 m de profundidade que divide a baía em três enseadas principais (Martel, Mackelar e Ezcurra), sendo que cada uma delas abriga uma estação de pesquisa (Majewski & Tatur, 2009). As enseadas Mackelar e Martel constituem a parte norte da baía e a enseada Ezcurra, localiza-se na porção oeste (Bromberg *et al.*, 2000).

O predomínio de fortes ventos de direção oeste-sudoeste e norte-noroeste junto com a maré dirigem a circulação da água no interior da baía (Majewski & Tatur, 2009), e desempenham um papel importante no transporte de matéria orgânica, nutrientes e metais traço, que influenciam na produção primária (Lange *et al.*, 2007).

De acordo com Racusa-Suszczewski (1980), o fluxo de água doce para a Baía do Almirantado é originado nas geleiras. No entorno da baía encontram-se os campos de gelo (*ice field*) Arctowski, Warszawa e Krakow, e muitas *tidewater glaciers* que se distribuem ao longo da linha de costa (Braun & Gossmann, 2002) (Fig. 1). A sedimentação é afetada por processos de degelo, que é disperso pela circulação local, carregando nutrientes e baixando a salinidade da água (Lange *et al.*, 2007).

A presença de plantas e animais, como musgos, algas, fungos, líquens, aves e mamíferos aquáticos (Pinnipedia), representa uma fonte significativa de diferentes classes de marcadores geoquímicos. Em particular, aves e mamíferos marinhos contribuem expressivamente com os esteróis fecais (5 β -colestano-3 β -ol e 5 β -colestano-3 α -ol) e colest-5-en-3 β -ol, sendo as principais fontes desses compostos nesse ambiente (Venkatesan & Santiago, 1989).

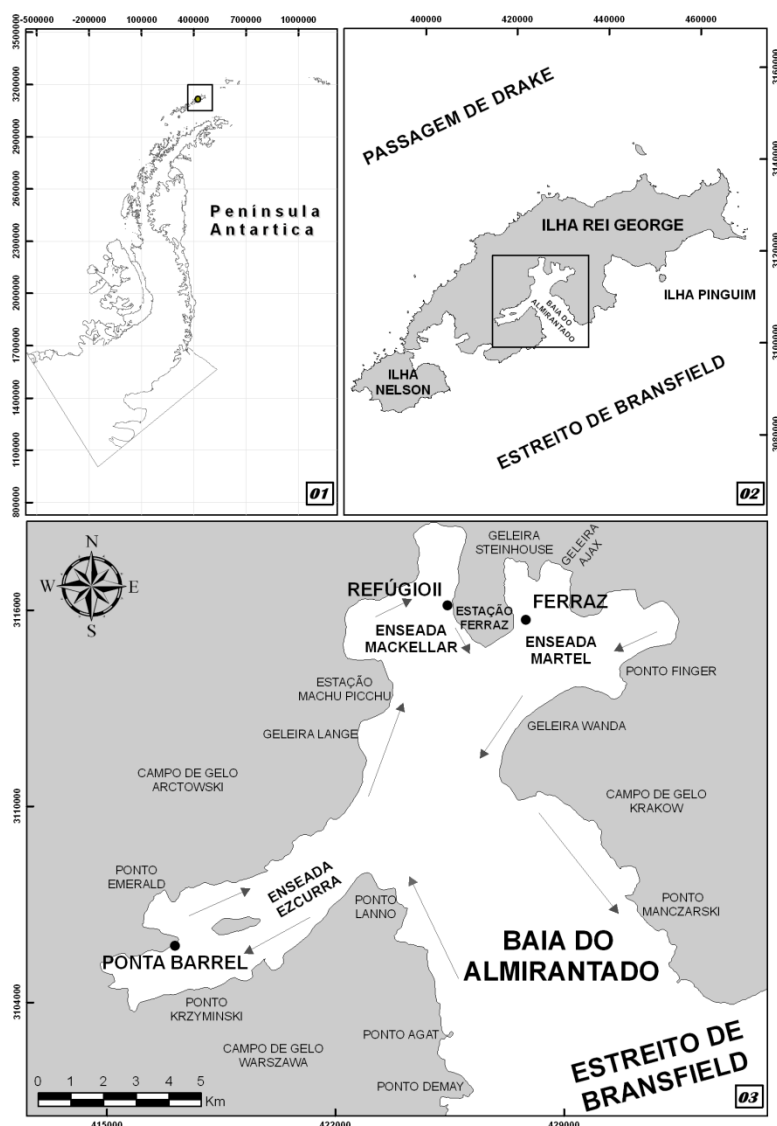


Fig 1. Mapa da região estudada com os três pontos amostrais na Baía do Almirantado (03). As setas indicam a direção da circulação dentro da Baía (Rakusa-Suszczewski, 1980).

Amostragem

Foram coletados três testemunhos de sedimento entre os verões de 2006/2007 e 2009/2010, um em cada enseada da Baía do Almirantado (Ferraz - FER, *Barrel Point* – BAR, e Refúgio II – REF) (Fig. 1). Os testemunhos foram obtidos a partir de um amostrador do tipo *box core* (25 × 25 × 55 cm) com capacidade para coletar um pacote sedimentar de até 50 cm de profundidade. Tubos de alumínio (com 25 mm de diâmetro)

foram utilizados na coleta e as colunas sedimentares foram sub-amostrados em seções de 1 cm (exceto no testemunho REF, onde as seções foram de 2 cm). As amostras foram transferidas para bandejas de alumínio previamente calcinadas a 400 °C por 4 horas e, posteriormente, congeladas.

Em laboratório, as amostras foram liofilizadas e armazenadas adequadamente em frascos de vidro previamente calcinados a 400 °C por 4 horas, até o início do processo de extração e fracionamento das frações lipídicas.

Procedimento Laboratorial

O método analítico utilizado foi adaptado de UNEP (1992), Readman *et al.* (1986) e USEPA 3540/3640, com modificações na obtenção da fração 3, que corresponde aos n-alcanóis e esteróis. Para análise de cada amostra, partiu-se de 20 g de sedimento, extraído em Soxhlet durante 8 horas, com 80 mL de uma mistura (1:1) n-hexano/diclorometano (DCM) (ambos J.T. Baker), e 100 µL de uma solução de padrões sub-rogados contendo eicoseno, hexadeceno (50 ng.µL⁻¹) e 5α-androstanol (20 ng.µL⁻¹) (todos da Supelco). Cobre, previamente tratado com solução HCl 2 mol.L⁻¹ foi adicionado aos solventes da extração.

Após esta etapa, as amostras foram concentradas e levadas ao procedimento de purificação e fracionamento das frações lipídicas em coluna cromatográfica com sílica (sílica gel 60, 0,063 - 0,200 mm, Merck) e a alumina (óxido de alumínio 90 ativo, 0,063-0,200 mm, Merck) (5% desativadas). As amostras foram eluídas com 10 mL de n-hexano para fração 1 (hidrocarbonetos alifáticos – não analisado), 15 mL de n-hexano/DCM 30% para a fração 2 (HPAs + alquenonas – não analisado) e 5 mL de etanol/DCM 1:9, seguida de 20 mL de etanol para a fração 3 (esteróis e n-alcanóis). A fração 3 foi então levada ao processo de derivação, durante 90 minutos à temperatura

aproximada de 70 °C em banho-maria, adicionando-se 40 µL do reagente N,O-bis (trimetil-silil-trifluór-acetamida)/trimetil-cloro-silano (BSTFA/TMCS – 99:1).

Parte instrumental, quantificação e identificação dos compostos

A análise instrumental dos esteróis e dos n-alcanóis foi previamente descrita por Montone et al. (2010) e realizada através de um cromatógrafo a gás, equipado com um detector de ionização de chama (GC-FID) e uma coluna cromatográfica HP-5 Agilent 19091J-015, com dimensões de 50,0 m x 0,32 mm x 0,17µm d.i. As temperaturas do injetor e detector foram de 300 e 325 °C, respectivamente. O programa de aquecimento teve início a 40 °C aumentando para 240 °C a uma taxa de 10 °C min⁻¹, em seguida para 245 °C a uma taxa de 0,15 °C min⁻¹, e, finalmente, para 300 °C a 10 °C min⁻¹, permanecendo nessa temperatura por 9,5 minutos. Foram injetados 1 µL da amostra em modo sem divisão da amostra, utilizando H₂ como gás de arraste. O fluxo dos gases do detector foi de 40 mL min⁻¹ para o H₂, 450 mL min⁻¹ para o ar sintético e 2 mL min⁻¹ para o N₂ (complementar).

A identificação dos compostos foi realizada através de soluções de padrões externos de n-alcanóis n-C_xOH (x = 13 – 30) e esteróis (5β-colestan-3β-ol, 5β-colestan-3α-ol, colest-5-en-3β-ol, 5α-colestan-3β-ol, 24-metil-colest-5-en-3β-ol, 24-etil-colesta-5,22E-dien-3β-ol, 24-metil-colesta-5,22E-dien-3β-ol, 24-etil-colest-5-en-3β-ol, 24-etil-colestan-3β-ol), com concentrações de 0,25 a 20,0 ng µL⁻¹, constituindo as curvas de calibração. Todos os compostos apresentaram índice de correlação linear de Pearson igual ou superior a 99,5% (r² = 0,995), critério este utilizado para aceitação das mesmas.

A quantificação dos compostos foi feita através do programa HP Chemstation (G2070 BA), determinando o fator de resposta de cada composto em relação aos padrões sub-rogados, a identificação foi realizada pela coincidência entre os tempos de retenção dos picos cromatográficos dos compostos presentes nas amostras e nas

soluções de padrões externos. Para a quantificação das amostras, considerou-se a área de cada composto multiplicada pelo fator de resposta do mesmo, presente na curva de calibração, em relação à razão massa/área do padrão sub-rogado adicionado em cada amostra no início de cada extração.

Controle de qualidade do método analítico

Branco de extração foram realizados a cada 20 amostras, para avaliar contaminações externas durante as análises. Apenas para o n-C₂₀OH foram observados picos nos brancos que interferiram nas análises, e identificado por CG-EM como ftalato, sendo então, excluído dos resultados e não considerado nas discussões desse trabalho.

A recuperação dos padrões sub-rogados variou entre 63,7 a 186,6%, com média de $119,2 \pm 4,8\%$ para n-alcanóis e esteróis, sendo que apenas 14% das amostras apresentaram recuperações fora da faixa considerada ideal (40 a 140%) (Qian & Jackson (1997)). A recuperação de padrões externos de esteróis e n-alcanóis em matrizes fortificadas apresentou valores entre 52,3 a 66,7% (média = $53,1 \pm 5,2\%$) e entre 42,9 e 140,8% (média = $95,2 \pm 29,5\%$), respectivamente.

O limite de detecção do método (LDM) foi definido como três vezes o desvio padrão de cinco amostras adicionadas de padrões externos (Wade & Cantillo, 1996), e variou de 0,002 a 0,006 $\mu\text{g.g}^{-1}$, com média de 0,005 $\mu\text{g.g}^{-1}$ para os esteróis, e variou entre 0,011 e 0,020 $\mu\text{g.g}^{-1}$, com média de 0,017 $\mu\text{g.g}^{-1}$ para os n-alcanóis. As concentrações encontradas para o material de referência IAEA-408 mostrou que 80% dos esteróis estão dentro da faixa de valores aceitáveis (85 – 115% do valor estabelecido). Um teste de precisão realizado através de análise de 5 réplicas de uma mesma amostra de sedimento mostrou variabilidade inferior a 20% para todos os esteróis e n-alcanóis analisados neste estudo.

Cálculo da data estimada das seções dos testemunhos

Para os testemunhos analisados, não foram feitas medidas específicas de datações. Porém, outros testemunhos coletados nas mesmas áreas amostrais foram datados anteriormente (Figueira *et al.*, 2005, Martins *et al.*, 2010), sendo os resultados utilizados neste trabalho. As taxas de sedimentação determinadas em estudos anteriores foram: $0,34 \pm 0,03 \text{ cm.ano}^{-1}$ para FER, $0,25 \pm 0,01 \text{ cm.ano}^{-1}$ para REF (Crepin Point), $0,13 \pm 0,01 \text{ cm.ano}^{-1}$ para BAR (Monsiment Cove).

Com base nas taxas de sedimentação, foram calculadas as datas estimadas para cada seção dos três testemunhos analisados através da equação:

$$\text{Data estimada} = a - (b/c)$$

Onde “data estimada” seria o ano correspondente a seção; “a” seria o ano em que o testemunho foi coletado; “b” seria a profundidade da seção no testemunho e “c” corresponde a taxa de sedimentação de cada testemunho.

Resultados e Discussão

Concentrações e fontes de esteróis

No total, 15 esteróis foram identificados nos testemunhos coletados na Baía do Almirantado: colest-5,22E-dien-3 β -ol, colest-22E-en-3 β -ol, colest-5-en-3 β -ol, 5 α -colest-3 β -ol, 24-metil-colest-5,22E-dien-3 β -ol, 24-metil-colest-22E-en-3 β -ol, 24-metil-colest-5-en-3 β -ol, 24-metil-colest-3 β -ol, 24-etil-colest-5,22E-dien-3 β -ol, 24-etil-colest-22E-en-3 β -ol, 24-etil-colest-5-en-3 β -ol, 24-etil-colest-3 β -ol e 4 α ,23,24-trimetil-colest-22E-en-3 β -ol, bem como os esteróis fecais 5 β -colest-3 β -ol e 5 β -colest-3 α -ol. A distribuição dos diferentes compostos reflete a diversidade de organismos vivendo em um ambiente com condições ambientais diferenciadas, como a Baía do Almirantado (Jaraula *et al.*, 2010).

A concentração de esteróis totais (OLs totais) variaram de 0,91 a 2,17 $\mu\text{g.g}^{-1}$ (BAR), 1,63 a 8,59 $\mu\text{g.g}^{-1}$ (REF) e de 2,64 a 13,99 $\mu\text{g.g}^{-1}$ (FER). As concentrações médias e o respectivo desvio padrão foram: $1,47 \pm 0,40 \mu\text{g.g}^{-1}$ (BAR), $4,03 \pm 2,47 \mu\text{g.g}^{-1}$ (REF) e $5,76 \pm 2,83 \mu\text{g.g}^{-1}$ (FER).

A distribuição da concentração dos esteróis totais em função da profundidade para os três testemunhos analisados encontram-se na Fig. 2.

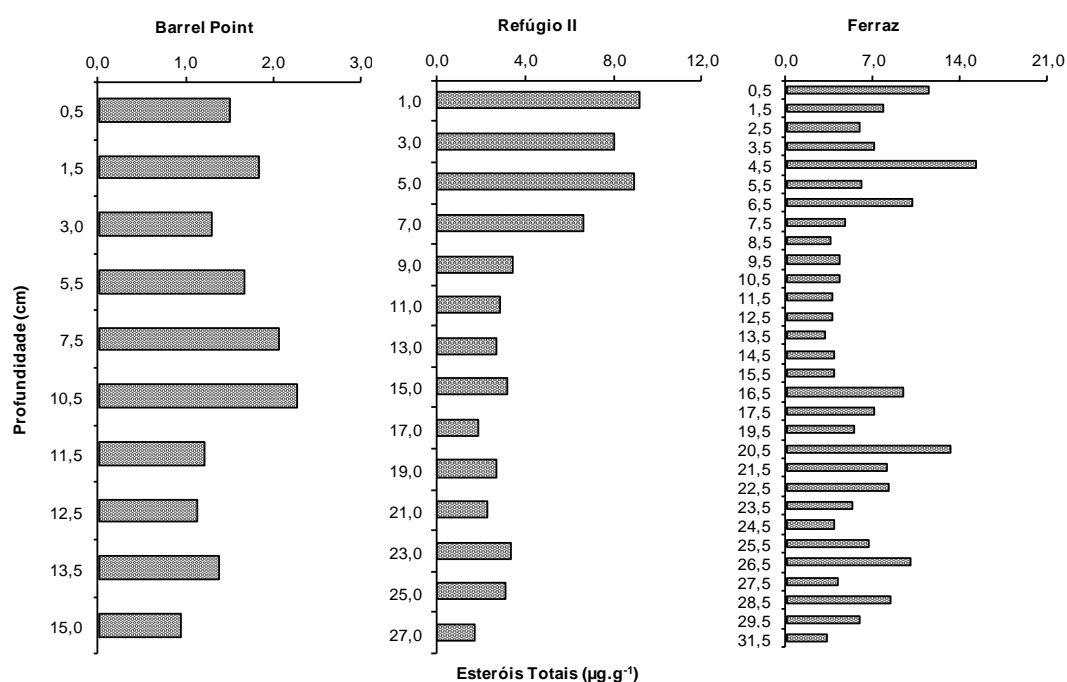


Fig. 2. Perfil vertical de esteróis totais (em $\mu\text{g.g}^{-1}$) ao longo dos testemunhos na Baía do Almirantado, Península Antártica.

O perfil vertical dos OLs totais em BAR apresenta maiores concentrações entre 7 e 11 cm de profundidade, com as menores concentrações nas seções mais profundas. Em REF, as concentrações mais elevadas de OLs totais ocorrem a partir de 7 cm de profundidade em direção à superfície. FER apresenta um perfil com muitas variações, com as menores concentrações observadas no intervalo de tempo correspondente ao período entre 7 e 16 cm de profundidade (Fig.2).

Essas variações ao longo dos perfis verticais nos testemunhos podem refletir oscilações no aporte de matéria orgânica no ambiente, sendo as seções com maiores concentrações indicando maior aporte de material ou maiores taxas de preservação, enquanto seções com decréscimo nos valores indicariam uma redução na quantidade de matéria orgânica nos sedimentos e maiores taxas de degradação (Meyers, 1997). Essas variações podem ocorrer em função de mudanças ambientais, que afetam os processos de aporte, soterramento e preservação e/ou degradação da matéria orgânica (Faux *et al.*, 2011), ou serem resultado de variabilidades naturais. Esse decréscimo com a profundidade, embora não seja constante, também pode ser resultado de processos de diagênese (Burns & Brinkman, 2011).

As maiores concentrações de OLs totais em determinadas seções dos diferentes testemunhos estudados (4-5 e 20-21 cm em FER, 10-11 cm em BAR e 4-6 cm em REF (Fig.2) (Tabela 1aS/1bS2S/3S) podem representar maior eficiência no acúmulo da matéria orgânica, maiores níveis de produção primária ou baixa remineralização a matéria orgânica na coluna d'água e sedimentos (Meyers, 1997). Diferenças na granulometria, como por exemplo, REF que possui 89,6% de sedimentos finos (silte e argila) nas seções superficiais, enquanto que BAR, que apresentou as menores concentrações, possui 77,8% (Freitas, 2008) podem explicar a variabilidade espacial. Essa hipótese é suportada por Jen & Chen (1995) que apontam para o efeito do tamanho do grão, afirmando que um enriquecimento aconteceria em sedimentos mais finos.

Os compostos colest-5-en-3 β -ol e colest-5,22E-dien-3 β -ol representaram de 12 a 36% (BAR), 10 a 33% (REF) e 15 a 60% (FER) e de 4 a 6% (BAR) 2 a 10% (REF), 1 a 3% (FER) dos OLs totais, respectivamente. Esses compostos são indicadores da contribuição de organismos fito e zooplancônicos. A comunidade fitoplanctônica é composta por diatomáceas, dinoflagelados, algas primnesiófitas, cianobactérias, etc.,

enquanto o zooplâncton da baía é constituído, entre outros, por copépodes (~ 18 espécies identificadas, sendo a mais abundante a *Oithona similis*), krill (*Euphausia superba*, *Euphausia crystallorophias*), e salpas (*Salpa thompsoni*), que contribuem principalmente com colest-5-en-3 β -ol para o ambiente (Fricke *et al.*, 1984; Phleger *et al.*, 2002; Volkman, 2005).

O colest-5-en-3 β -ol foi o esterol mais abundante nos testemunhos, refletindo uma preferência na sua síntese em relação aos demais por parte dos organismos deste ambiente, fato também verificado em outras regiões (Belicka *et al.*, 2004). Esse esterol pode ter além das fontes já citadas, a contribuição a partir de animais superiores, como espécies de pinguins como *Pygoscelis adeliae*, *Pygoscelis papua* e *Pygoscelis Antarctica*, e mamíferos marinhos, principalmente Pinnípedias, como elefantes marinhos (*Mirounga leonina*), focas (*Lobodon carcinophagus*, *Leptonychotes weddelli*, *Hydrurga leptonyx*) e lobos marinhos (*Arctocephalus gazella*), que habitam a Baía do Almirantado, e apresentam colônias concentradas principalmente na Enseada Ezcurra, em *Telefon Point*, *Thomas Point*, *Llano Point* e *Demay Point* (Fig. 1) (Sierakowski, 1991). Todos esses pontos localizam-se próximos à BAR, e em função da circulação dentro da Baía, o material produzido nessas colônias possivelmente seja carregado e depositado em BAR e chegando a REF (Racusa-Suszczewski, 1980). Mesmo localizando-se próximo a esses pontos com fontes potenciais, BAR apresentou as menores concentrações, o que, pode ser explicado em função da maior porcentagem de areia encontrada nessa área, em comparação com as outras. como já citado anteriormente

Os esteróis 24-metil-colesta-5,22E-dien-3 β -ol e 4 α ,23,24-trimetil-colesta-22E-en-3 β -ol também apresentaram uma representação significativa, de 6 a 14% e 7 a 12% (BAR), de 2 a 10% e de 3 a 10% (REF), e de 1 a 4% e de 2 a 11% (FER),

respectivamente. O esteroide 24-metil-colesta-5,22E-dien-3 β -ol é um marcador de diatomáceas (representa até 90% dos OLs totais nesses organismos) (Volkman, 1986), sendo os gêneros mais representativos encontrados na Baía do Almirantado: *Thalassiosira*, *Fragilariopsis*, *Pseudo-nitzschia* e *Chaetoceros*. Esse composto também é muito abundante em cianobactérias (presentes na baía principalmente da ordem Nostocales e Oscillatoriales) e algas criptófitas, indicando matéria orgânica oriunda desses organismos (Volkman, 2006). Já 4 α ,23,24-trimetil-colesta-22E-en-3 β -ol, é um indicador específico de dinoflagelados (Volkman, 1986), sendo espécies dos gêneros *Prorocentrum* ssp., *Gymnodinium* ssp., *Amphidinium* sp. e *Protoperidinium* spp. encontrados nessa região (Kopczynska, 2008) e possivelmente atuando como fontes desse composto para o ambiente. Este composto também tem sido identificado, porém como constituinte menor, em algumas espécies de diatomáceas (Volkman, 2006).

O ponto FER apresentou algumas particularidades, como concentrações bem elevadas de colest-5-en-3 β -ol e relativamente mais baixas de 24-metil-colesta-5,22E-dien-3 β -ol. As altas concentrações relativas de colest-5-en-3 β -ol verificadas (Tabela 1aS/1bS), podem estar associadas a uma maior produtividade local em função do maior fluxo e concentração de nutrientes (como nitrogênio e fósforo) provenientes das atividades da estação Brasileira Comandante Ferraz (Martins *et al.*, 2002). Esses efluentes representam uma importante, porém pontual, fonte de material orgânico que tanto se deposita no sedimento quanto pode contribuir com o aumento da produtividade local, gerando maior aporte de matéria orgânica para os sedimentos (Freitas, 2008). Quanto a baixa porcentagem de 24-metil-colesta-5,22E-dien-3 β -ol observada, pode ser resultado de uma menor presença de organismos que biossintetizam esse composto nesse ponto, preferindo outras regiões da Baía do Almirantado. Essas diferenças de concentração entre os pontos amostrais pode refletir também a variação entre os locais

da abundância desses organismos, mostrando que nem sempre sua distribuição é homogênea no ambiente (Skerrat *et al.*, 1995).

O composto 24-etil-colest-5-en-3 β -ol foi o segundo esterol mais abundante nos testemunhos analisados, representando de 13 a 19% dos OLs totais em BAR, de 10 a 20% em REF, e de 2 a 8% dos OLs totais em FER. A origem desse esterol em ambientes aquáticos não é bem clara, devido as determinações por CG-FIC não possibilitarem a identificação da posição do grupo 24-etil. O isômero 24 α (clionasterol) é derivado do plâncton, enquanto o isômero 24 β é produzido por plantas superiores (Volkman, 1986, 2006).

Na região da Baía do Almirantado, fontes terrestres estão limitadas a duas espécies de plantas vasculares, *Deschampsia antarctica* e *Colobanthus quitensis*, encontradas em áreas livres de gelo no interior da Baía (Harris *et al.*, 2011), e também musgos (principalmente as espécies *Sanionia uncinata*, *Syntrichia princeps* e *Brachytecium* sp.) e líquens (principalmente do gênero *Usnea*). Macroalgas do gênero Chlorophyta (7 espécies) identificadas na região da Baía do Almirantado (Oliveira *et al.*, 2009) são fontes marinhas de 24-etil-colest-5-en-3 β -ol (Volkman, 1986), assim como diatomáceas, cianobactérias e algas primnesiófitas.

O composto 24-etil-colesta-5,22E-dien-3 β -ol apresentou porcentagens relativas variando de 4 a 12% dos OLs totais em BAR, de 4 a 16% em REF e de 2 a 6% em FER, sendo um dos esteróis menos abundantes nos sedimentos da Enseada Martel. As possíveis fontes deste esterol são macroalgas do gênero Chlorophyta, algas primnesiófitas e criptófitas (Volkman, 1986).

Um dos esteróis menos abundantes nos testemunhos coletados nas enseadas Ezcurra e Mackellar foi o 24-metil-colest-5-en-3 β -ol, perfazendo de 1 a 6% dos OLs totais em BAR, de 1 a 8 % em REF (Fig. 3). No testemunho FER, este composto foi o

terceiro mais abundante, com porcentagens relativas entre 2 a 10% dos OLs totais. O 24-metil-colest-5-en-3 β -ol é associado a plantas terrestres ou fitoplâncton e algas primnesiófitas (Volkman, 1986). Entretanto, as baixas concentrações relativas encontradas (Tabela 1aS/1bS/2S/3S) em alguns locais da Baía do Almirantado podem estar relacionadas a ausência de organismos que biossintetizem este esterol.

Umas das maneiras de identificar o predomínio da origem marinha ou terrestre desses esteróis é através da razão 24-metil-colest-5-en-3 β -ol : 24-etil-colesta-5,22E-dien-3 β -ol : 24-etil-colest-5-en-3 β -ol. Valores entre 1,0:1,4:4,0 e 1,0:1,6:6,0 apontam para fontes terrestres, enquanto valores abaixo destes limites sugerem fontes marinhas destes compostos (Laureillard & Saliot, 1993; Carreira *et al.*, 2009).

Porém, 24-metil-colest-5-en-3 β -ol foi encontrado em concentrações próximas ao limite de detecção do método, inviabilizando o cálculo da razão em seções dos testemunhos BAR e REF (Tabelas 2S e 3S), o que poderia levar a interpretações equivocadas. Foi então calculada a razão 24-etil-colesta-5,22E-dien-3 β -ol:24-etil-colest-5-en-3 β -ol, onde a valores entre 1,0:2,9 e 1,0:3,9 indicam origem terrestre e valores abaixo sugerem origem marinha destes compostos. Os resultados para o testemunho BAR variaram entre 1,0:1,1 e 1,0:4,3 (média = 1,0:2,5 \pm 1,2), sendo que apenas nas seções próximas ao topo (0-1 e 2-4 cm), os valores indicam alguma contribuição de fontes terrestres. Nas demais seções, prevalece a origem marinha destes compostos. No testemunho REF, os valores variaram entre 1,0:0,7 e 1,0:4,8 (média = 1,0:2,0 \pm 0,1), enquanto apenas na seção 6-8 cm, os valores indicam alguma contribuição de fontes terrestres.

No testemunho FER, as concentrações de 24-metil-colest-5-en-3 β -ol foram relativamente mais elevadas (Tabela 1aS/1bS), a razão foi integralmente utilizada e indicou a origem marinha desses compostos, com valores variando entre 1,0:0,2:0,4 e

1,0:2,7:4,1 (média = 1,0:0,8 \pm 0,4:1,1 \pm 0,7). Somente a seção 5-6 cm, os valores sugerem maior contribuição de matéria orgânica de fontes terrígenas.

Os esteróis fecais 5 β -colestano-3 β -ol e 5 β -colestano-3 α -ol, apresentaram concentrações próximas ou abaixo do LDM em diversas seções dos testemunhos analisados, representando de < 1 a 2% em BAR e de 1 a 3% dos OLs totais em REF e FER.

Segundo Green e Nichols (1995), há três fontes principais e identificadas desses esteróis no ambiente marinho Antártico: (i) fezes humanas, provenientes do esgoto gerado pelas estações de pesquisa; (ii) fezes de mamíferos marinhos; (iii) formação *in situ* em ambientes redutores (colest-5-en-3 β -ol \rightarrow 5 β -colestano-3 β -ol), tais como águas anóxicas de fundo de *fjords*.

Para diferenciar a contribuição dos esteróis fecais de origem humana ou natural, Venkatesan & Santiago (1989), propuseram índices específicos como a razão entre as concentrações de 5 β -colestano-3 β -ol e 5 β -colestano-3 α -ol (cop/e-cop). Valores abaixo de 2,5 sugerem contribuições provenientes de mamíferos marinhos, enquanto valores acima estariam relacionados ao descarte de esgoto. Os valores encontrados neste estudo variaram em torno de 1.0 em BAR, entre 0,3 e 2,0 (média = 0,8 \pm 0,4) em REF, entre 0,8 e 2,3 (média = 1,2 \pm 0,3) em FER, indicando que os esteróis fecais encontrados na área de estudo são predominantemente de origem natural, ou seja, dos mamíferos citados anteriormente.

Em termos de concentração absoluta, os valores de esteróis fecais variaram entre valores abaixo do LDM a 0,01 $\mu\text{g.g}^{-1}$ (média = 0,010 \pm 0,004 $\mu\text{g.g}^{-1}$) em BAR; de 0,01 a 0,06 $\mu\text{g.g}^{-1}$ (média = 0,03 \pm 0,01 $\mu\text{g.g}^{-1}$) em REF; e de 0,03 a 0,15 $\mu\text{g.g}^{-1}$ (média de 0,05 \pm 0,03 $\mu\text{g.g}^{-1}$) em FER (Tabelas 1aS/1bS/2S/3S). Estes valores são inferiores ao valor de *background* estabelecido por Montone *et al.* (2010) para a Enseada Martel (0,19 $\mu\text{g.g}^{-1}$),

o que indica uma contribuição pouco significativa de esteróis provenientes de esgotos, e confirma a origem natural destes.

Os esteróis saturados, que consiste na soma das concentrações dos estanois colesta-22E-en-3 β -ol, 5 α -colestano-3 β -ol, 24-metil-colesta-22E-en-3 β -ol, 24-metil-colestano-3 β -ol, 24-etil-colesta-22E-en-3 β -ol e 24-etil-colestano-3 β -ol ocorrem em menores proporções relativas que os análogos insaturados. Estes compostos são associados as mesmas fontes dos respectivos esteróis parentais e também a processos de transformação da matéria orgânica através da diagênese dos esteróis insaturados. Representaram de 20 a 34% dos OLs totais em BAR, de 20 a 45% em REF, de 16 a 49% em FER. A presença desses estanois, mesmo que em baixas concentrações (Tabela 1aS/1bS/2S/3S), indica a hidrogenação da dupla ligação do carbono 5, nos esteróis parentais, processo que ocorre nos sedimentos (Volkman *et al.*, 2008).

Concentrações e fontes de n-Alcanóis

Nos testemunhos analisados, foram identificados 14 n-alcanóis com estrutura variando de 12 a 30 átomos de carbono na cadeia. Os n-alcanóis identificados foram: n-C₁₂OH a C₂₀OH, n-C₂₄OH, n-C₂₆OH a n-C₂₈OH e n-C₃₀OH.

No testemunho BAR, as concentrações dos n-alcanóis totais variaram de 0,20 a 0,58 $\mu\text{g.g}^{-1}$ (média = $0,35 \pm 0,11 \mu\text{g.g}^{-1}$) (Tabela 4S) e dos n-alcanóis (C₁₂-C₂₀) leves foram entre 0,18 e 0,56 $\mu\text{g.g}^{-1}$, (média = $0,32 \pm 0,11 \mu\text{g.g}^{-1}$), enquanto dos n-alcanóis pesados (C₂₂-C₃₀) variaram entre 0,01 e 0,06 $\mu\text{g.g}^{-1}$ (média = $0,03 \pm 0,02 \mu\text{g.g}^{-1}$).

Em REF, a concentração média dos n-alcanóis totais foi de $0,80 \pm 0,47 \mu\text{g.g}^{-1}$, com valores entre 0,33 e 2,14 $\mu\text{g.g}^{-1}$ (Tabela 5S). Assim como em BAR, os n-alcanóis leves foram mais abundantes, com concentração média de $0,70 \pm 0,45 \mu\text{g.g}^{-1}$, variando de 0,29 a 2,06 $\mu\text{g.g}^{-1}$ e valores entre 0,04 e 0,29 $\mu\text{g.g}^{-1}$ (média = $0,10 \pm 0,07 \mu\text{g.g}^{-1}$) para os n-alcanóis pesados.

FER apresentou valores para os n-alcanóis totais variando entre 0,22 e 1,97 $\mu\text{g.g}^{-1}$, com média de $0,67 \pm 0,39 \mu\text{g.g}^{-1}$ (Tabela 6aS/6bS). Os n-alcanóis leves predominaram sobre os pesados, sendo valores entre 0,11 e 1,26 $\mu\text{g.g}^{-1}$ (média = $0,48 \pm 0,20 \mu\text{g.g}^{-1}$) para os leves e entre 0,04 e 1,41 $\mu\text{g.g}^{-1}$ (média = $0,20 \pm 0,32 \mu\text{g.g}^{-1}$) para os n-alcanóis pesados.

A distribuição da concentração dos n-alcanóis totais em função da profundidade para os três testemunhos analisados podem ser visualizados na Fig. 3.

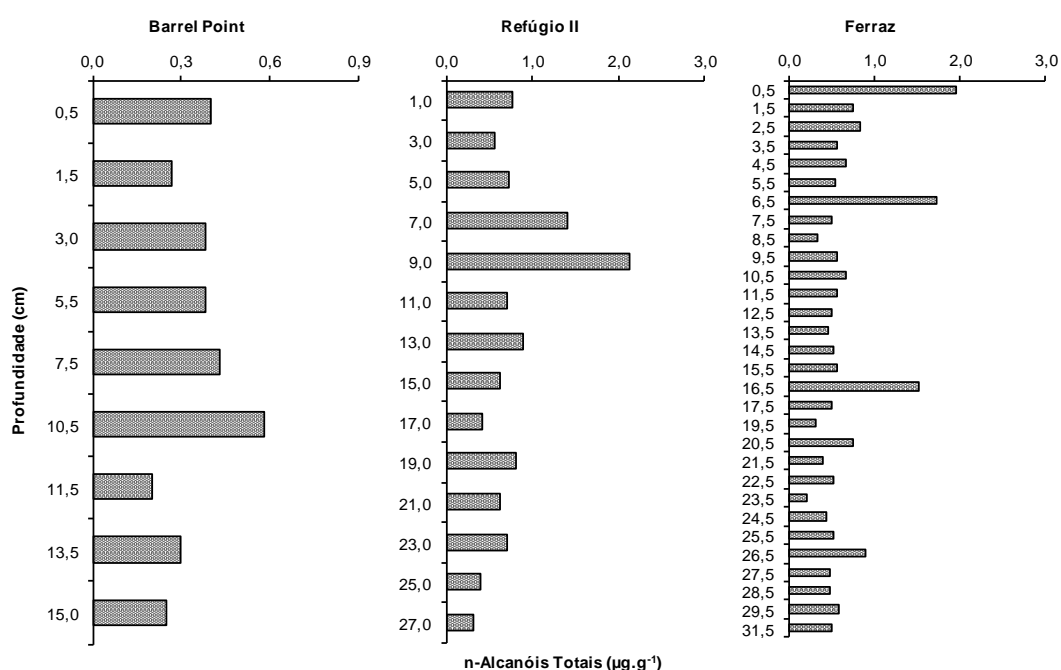


Fig. 3. Perfil vertical de n-alcanóis totais (em $\mu\text{g.g}^{-1}$) ao longo dos testemunhos na Baía do Almirantado, Península Antártica.

O perfil vertical dos n-alcanóis totais em BAR é semelhante aos OLs totais, com maiores concentrações entre as seções de 7 e 11 cm. Em REF, os valores mais elevados de concentração ocorreram entre 7 e 9 cm de profundidade enquanto em FER, três picos mais significativos podem ser observados, em 16,5, 6,5 e 0,5 cm de profundidade. Assim como para os OLs totais, essas variações nos perfis podem refletir oscilações no

aporte de matéria orgânica de fontes que biossintetizam esses compostos ou condições favoráveis a preservação da matéria orgânica depositada (Meyers, 1997).

Os n-alcanóis leves sugerem contribuição de organismos marinhos, que inclui entre as fontes, as algas aquáticas e bactérias (Meyers, 2003; Xiong *et al.*, 2010), zooplâncton (Burns & Brinkman, 2011) e a hidrólise de ésteres de zooplâncton que dão origem a alcoóis saturados e insaturados de C₁₄ a C₂₂ (Volkman, 2006). Os n-alcanóis pesados indicam aporte de matéria orgânica de origem terrestre, porém, no ambiente Antártico, estas fontes estão limitadas as duas espécies de plantas vasculares da região, a citar os líquens (fonte de n-C₂₄OH) e musgos (especificamente o n-C₂₈OH) (Wang *et al.*, 2007).

A predominância de n-alcanóis leves em todos os testemunhos indica que a matéria orgânica de origem sedimentar é, predominantemente, de organismos marinhos, como algas, ou seja, matéria orgânica marinha e autóctone. Embora com concentrações reduzidas, a presença de n-alcanóis pesados reflete uma contribuição menos significativas de matéria orgânica terrestre, provenientes de líquens e musgos da região.

Distribuição vertical do Fitol

Fitol, um álcool isoprenóide derivado da degradação da clorofila-*a* (Volkman *et al.*, 2008), foi encontrado ao longo de todos os testemunhos analisados. Esse composto geralmente aparece como principal álcool no ambiente Antártico, e como é encontrado de maneira ubíqua em plantas de coloração verde, é utilizado como um marcador de vegetação (Huang *et al.*, 2010). No caso da região Antártica, sua contribuição está relacionada a plantas vasculares (*D. antarctica* e *C. quitensis*), líquens, musgos e algas (Wang *et al.*, 2007).

A distribuição da concentração do fitol em função da profundidade para os três testemunhos analisados encontram-se na Fig. 4.

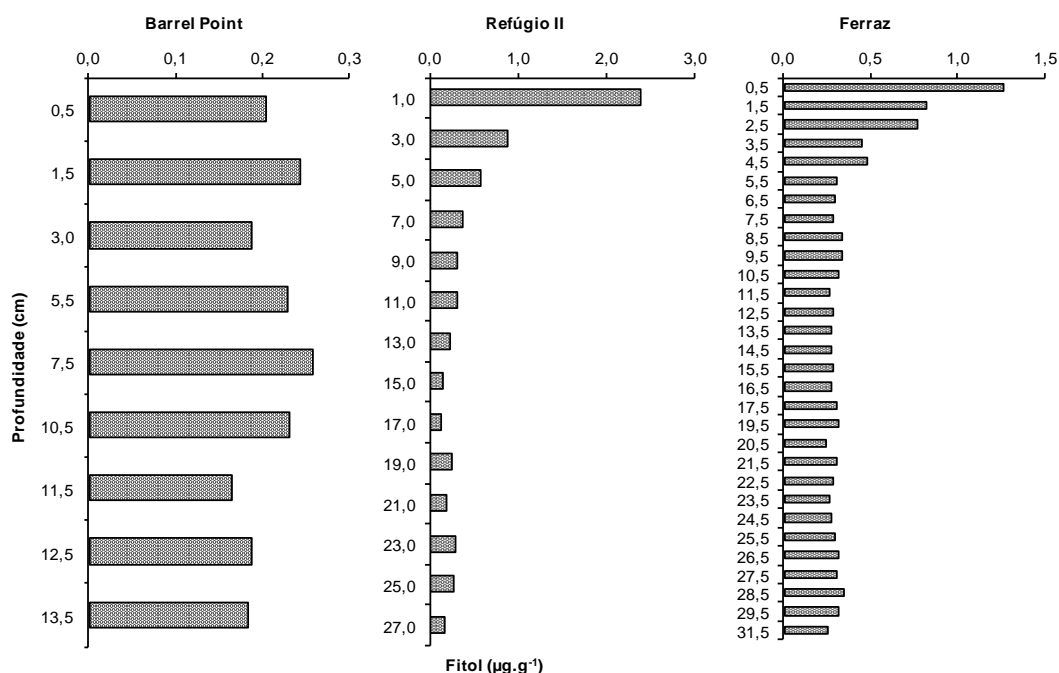


Fig. 4. Perfil vertical de fitol (em $\mu\text{g.g}^{-1}$) ao longo dos testemunhos na Baía do Almirantado, Península Antártica.

Em BAR, as concentrações do fitol variaram de 0,17 a 0,26 $\mu\text{g.g}^{-1}$ (média = 0,21 \pm 0,03 $\mu\text{g.g}^{-1}$) (Tabela 4S), e a distribuição desse composto ao longo deste testemunho foi constante com concentrações próximas ao limite de detecção dos n-alcanóis.

As amostras de REF apresentaram concentrações do fitol variando de 0,13 a 2,39 $\mu\text{g.g}^{-1}$ (média = 0,47 \pm 0,59 $\mu\text{g.g}^{-1}$) (Tabela 5S). Em FER, a concentração média foi de 0,37 \pm 0,21 $\mu\text{g.g}^{-1}$, com valores variando de 0,24 a 1,26 $\mu\text{g.g}^{-1}$ (Tabela 6aS/6bS). Concentrações mais elevadas foram observadas nas seções próximas ao topo do testemunho, em sedimentos mais recentes, enquanto nas demais seções, foi verificada uma distribuição mais homogênea, sem variações significativas.

Trabalhos com fitol em sedimentos marinhos são ausentes na Baía do Almirantado e poucos foram realizados na região antártica. Os trabalhos de Huang *et al.* (2010; 2011) avaliaram a distribuição do fitol em testemunhos na Antártica, porém, coletados no continente, e por isso a dificuldade em comparar as concentrações com os

resultados do presente trabalho. Em ambos os trabalhos, os autores descrevem concentrações elevadas de fitol, alcançando por volta de $50 \mu\text{g.g}^{-1}$ (Huang *et al.*, 2010), e aproximadamente $600 \mu\text{g.g}^{-1}$ (Huang *et al.*, 2011), provavelmente por se tratar de testemunhos continentais, onde a contribuição de plantas é muito mais significativa e a degradação do fitol menos ativa.

As baixas concentrações observadas em todos os testemunhos no presente trabalho (Tabela 4S/5S/6aS/6bS) podem ser consequência da ausência de fontes significativas para esse composto na região, que embora existam, não contribuem em quantidades elevadas com o fitol. Outra explicação seria a degradação do fitol em sedimentos, o que inclui a biodegradação aeróbica e anaeróbica, fotodegradação e sulfurização (Rontani & Volkman, 2003, Volkman *et al.*, 2008) na interface água-sedimento, o que afeta as concentrações deste composto.

As concentrações mais elevadas na superfície e o decréscimo com a profundidade (Fig.4) é o padrão esperado devido os processos de degradação do fitol, e como nenhuma alteração é observada com aumento da profundidade, pode-se inferir que nenhuma mudança significativa ocorreu no aporte desse composto no período considerado (Burs & Brinkman, 2011). Entretanto, há evidências de boa preservação desse composto em sedimentos antárticos continentais devido a baixas temperaturas, sendo encontrado em altas concentrações em diferentes regiões da Antártica, como em *Vestfold Hills*, leste da Antártica e na *Península Fildes* sudoeste da Ilha Rei George (Huang *et al.* 2010; 2011), como já citado anteriormente.

Alteração diagenética da matéria orgânica indicada pela razão estanol/estenol

A razão estanol/estenol pode ser utilizada para avaliar os efeitos da diagênese sobre a matéria orgânica, devido aos esteróis saturados (estanóis) ocorrerem nos sedimentos marinhos como resultado da redução bacteriana dos esteróis insaturados

(estenóis), ajudando na identificação dos processos de degradação ou preservação da matéria orgânica sedimentar (Jeng & Han, 1996).

Para cada seção de cada testemunho foi calculada a razão estanol/estenol para todos os pares saturados/insaturados (colesta-22E-en-3 β -ol/colesta-5,22E-dien-3 β -ol - dehidro-a/dehidro-e; 5 α -colestan-3 β -ol/colest-5-en-3 β -ol - col-a/col-e; 24-metil-colesta-22E-en-3 β -ol/24-metil-colesta-5,22E-dien-3 β -ol - bras-a/bras-e; 24-metil-colestan-3 β -ol/24-metil-colest-5-en-3 β -ol - camp-a/camp-e; 24-etil-colesta-22E-en-3 β -ol/24-etil-colesta-5,22E-dien-3 β -ol - estig-a/estig-e; 24-etil-colestan-3 β -ol/24-etil-colest-5-en-3 β -ol - sito-a/sito-e).

Valores da razão entre 0,1 e 0,5 indicam matéria orgânica recém-depositada, sugerindo predomínio da forma insaturada, sem alterações diagenéticas significativas e uma baixa taxa de hidrogenação no ambiente, enquanto valores acima de 0,5 indicariam um ambiente com condições que favorecem a ocorrência de processos diagenéticos, com o predomínio da forma saturada, como consequência da transformação da matéria orgânica (Wakeham & Canuel, 2006, Carreira *et al.*, 2011).

Para a discussão da alteração da matéria orgânica foi usada a faixa de valores médios por seção dos testemunhos, mostrada na Fig. 5.

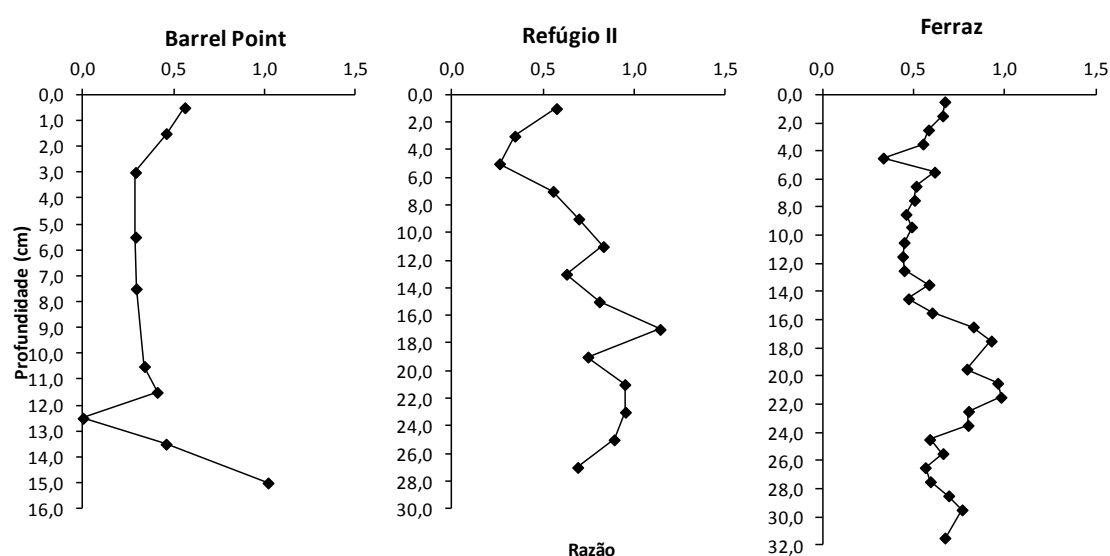


Fig. 5 Valores das razões entre os esteróis insaturados e saturados (C_{27} a C_{29}) ao longo dos três testemunhos analisados.

Para o testemunho BAR, os valores da razão variaram entre 0,3 a 1,0 (Tabela 7S). Porém, ao longo do testemunho os valores variaram em torno de 0,3 a 0,6 indicando que ao longo do testemunho há o predomínio da forma insaturada. Esse resultado sugere que houve uma baixa conversão pós-deposicional da matéria orgânica em quase todo o testemunho, não indicando uma degradação substancial (Volkman *et al.*, 2008). Somente na base da coluna sedimentar do testemunho, o valor de 1,0 foi verificado, sugerindo que nesse período as condições ambientais favoreceram a conversão da matéria orgânica (Muri *et al.*, 2004).

Em REF, os valores da razão variaram entre 0,3 e 1,1 (Tabela 8S) com maior predomínio de valores abaixo ou próximos de 0,5 somente nas seções mais superficiais, sugerindo matéria orgânica “fresca” ou condições de preservação do material depositado nesses períodos. Já nas seções de maior profundidade, o predomínio de valores mais altos sugere alterações significativas na matéria orgânica sedimentada com conversão dos isômeros insaturados para saturados, indicando a degradação desse material.

Em FER, os valores da razão variaram entre 0,3 e 1,0 (Tabela 9aS/9bS), e assim como em REF foram observados valores mais baixos da razão, com predomínio entre 0,3 e 0,6, entre as camadas superficiais até metade do testemunho, a partir de onde, há predomínio de valores acima de 0,8. Esse perfil indica novamente matéria orgânica “fresca” nas seções superficiais, enquanto condições de preservação da matéria orgânica são evidentes nas camadas intermediárias. Nos sedimentos mais antigos, houve uma significativa alteração na matéria orgânica sedimentada, onde a forma saturada

predomina em todas as seções, indicando a conversão do isômero insaturado para o saturado.

Esse aumento nos valores da razão com a profundidade observado em REF e FER tem sido relatado em outros trabalhos (Sanchun *et al.*, 1992; Lü e Zhai, 2006; Muri *et al.*, 2004) e indica que ao longo do tempo a redução do estenol para estanol (Arzayus & Canuel, 2004) ocorre com maior intensidade, provavelmente em função do tempo e, no caso dos dois testemunhos, condições ambientais para que haja essa conversão, como melhor oxigenação dos sedimentos e hidrogenação por atividade de bactérias (Canuel & Martens, 1993; Yoshinaga *et al.*, 2008; Christodoulou *et al.*, 2009).

Distribuição de marcadores orgânicos em escala temporal e relação com as variações de temperatura

A compreensão das mudanças nos padrões de distribuição da matéria orgânica ao longo do tempo pode ser inferida através das taxas de sedimentação, fornecendo um histórico dessas variações. Através das taxas de sedimentação, foram estimadas as datas de cada seção do testemunho de FER, escolhido em função de suas seções compreenderem menores intervalos de tempo, tornando melhor a resolução temporal do testemunho. As seções foram então agrupadas em intervalos de profundidades, de acordo com as variações nas concentrações dos marcadores analisados, sendo classificadas em grupos A (sedimentos mais recentes), B, C, D, e E (sedimentos mais antigos).

A distribuição da concentração dos compostos ao longo do testemunho de FER coletados na Baía do Almirantado é apresentada na Fig. 6.

O período E corresponde aos anos entre 1914 e 1926. Para esse período não foram encontrados dados contínuos de séries temporais para a temperatura média na região. Jones (1990) fez uma compilação de informações de expedições científicas

desde o início de 1900, podendo auxiliar na interpretação. Embora os dados reflitam uma média para toda a região da Península Antártica, os dados refletem a tendência média na época e podem ser utilizados como base para comparação.

A partir dessas informações, é possível observar temperaturas médias mínimas de $-14,8\text{ }^{\circ}\text{C}$ em 1915 e $-3,3\text{ }^{\circ}\text{C}$ em 1921 durante o intervalo de tempo que corresponde ao período E (Jones, 1990). Essas oscilações parecem não ter interferido nos processos de aporte de matéria orgânica, não sendo observada nenhuma variação significativa nos valores de concentração dos compostos.

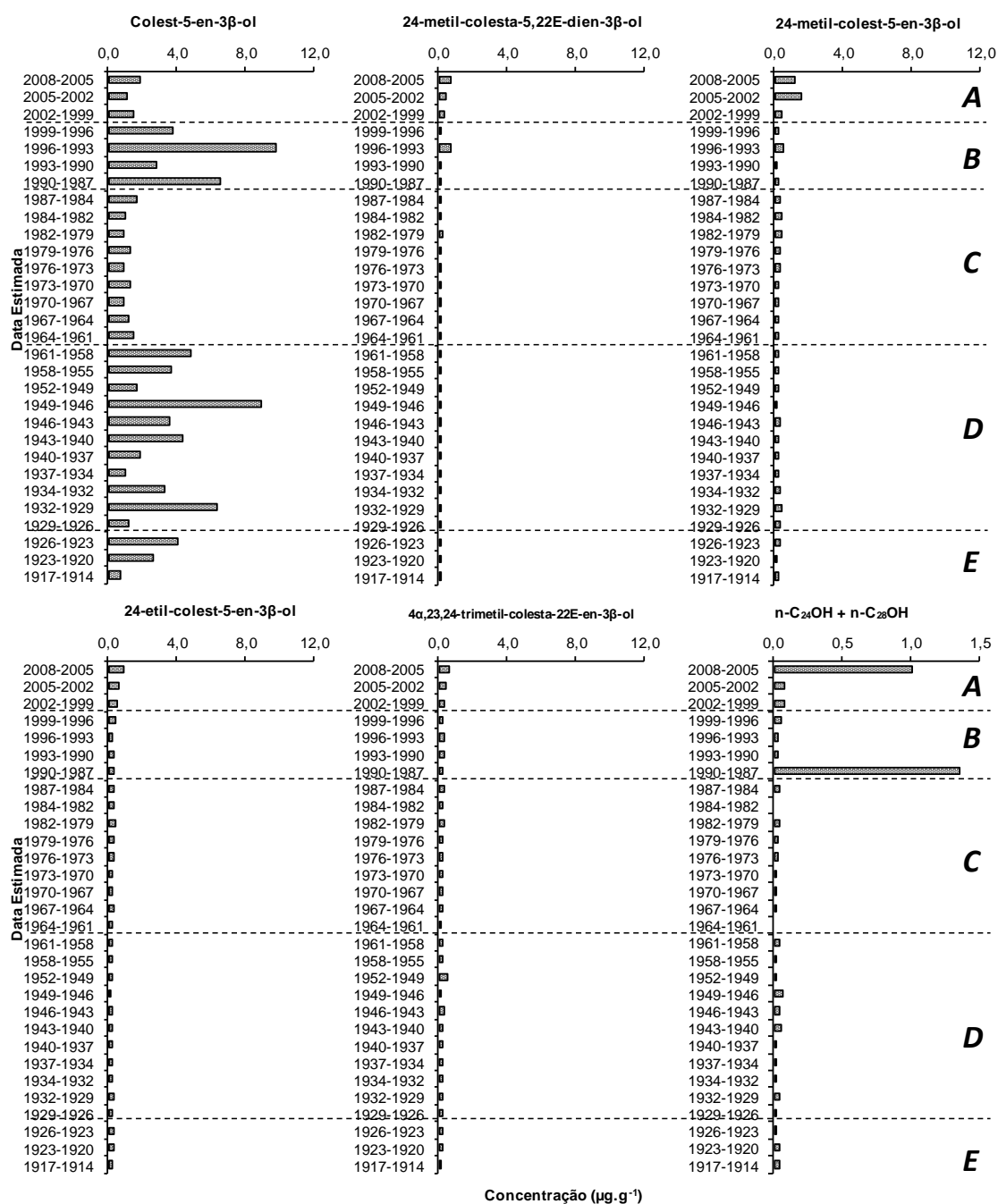


Fig. 6. Concentração de esteróis e n-alcanóis (em $\mu\text{g.g}^{-1}$) no testemunho de Ferraz, Baía do Almirantado, Península Antártica. As linhas pontilhadas A-E correspondem aos períodos: A (2008-1999); B (1999-1987); C (1987-1961); D (1961-1926); E (1926-1914).

No período D, correspondente aos anos de 1926 a 1961, colest-5-en-3 β -ol (colesterol) apresentou um pico de concentração em 1929-1932 e outro pico em 1946-1949. O esterol 4 α ,23,24-trimetil-colesta-22E-en-3 β -ol (dinosterol) também apresentou

valores relativamente mais altos em 1949-1952, entretanto considerando a escala das concentrações, essa variação foi pouco significativa (Fig.6). Os demais compostos mantiveram suas concentrações relativamente constantes, com poucas oscilações, sem muita significância. Esse padrão pode sugerir que as fontes desses esteróis nesse período não sofreram nenhum distúrbio. Segundo as informações de Jones (1990), no ano de 1935 a temperatura média na região foi de $-4,6^{\circ}\text{C}$, um pouco mais elevadas que nos anos anteriores.

No período C, correspondente aos anos de 1961 a 1987, o testemunho de FER apresentou concentrações de colest-5-en- 3β -ol relativamente constantes e mais baixas que nos períodos anteriores. Os demais esteróis, indicadores de fitoplâncton, algas e plantas apresentaram uma distribuição sem variações significativas (Fig.6).

A série temporal da temperatura média do ar apresentada por Setzer & Romão (2008) na Baía do Almirantado (Fig.7), cujas tendências já foram observadas pela série apresentada por Ferron *et al.* (2004) na Ilha Rei George, auxilia nas comparações entre as oscilações na temperatura média do ar, com variações no perfil vertical de alguns esteróis para o período entre 1949 e 2007.

O aporte relativamente constante do colest-5-en- 3β -ol no período C coincide com um período onde as temperaturas médias também foram mais constantes entre 1962 e 1977, em torno de $-2,0$ a $-2,5^{\circ}\text{C}$. A partir dessa data, variações mais pronunciadas são observadas nas médias de temperatura, que se tornam também mais elevadas, como $-0,5$ em 1985 e 0°C em 1989. Esse aumento na temperatura no início da década de 80 coincide com os relatos do declínio das populações de pinguins na região antártica desde meados de 1980 (Sander *et al.*, 2007; Trivelpiece *et al.*, 2010).

No período B, que corresponde aos anos entre 1987 e 1999, concentrações ligeiramente mais elevadas de colest-5-en- 3β -ol e de n-alcanóis foi observado entre

1987 e 1990 (Fig.6). Nesse período, as temperaturas médias anuais foram mais elevadas, chegando ao máximo de 0° C em 1989, a média de temperatura mais alta registrada. Esse aumento de temperatura pode ter gerado um processo de degelo mais intenso, carreando mais material particulado para dentro da baía, acarretando uma maior disponibilidade de nutrientes para o ambiente, e também, material para sedimentação.

O aumento na temperatura gera maiores extensões de áreas livres de gelo no continente, favorecendo o crescimento de plantas terrestres (Clarke *et al.*, 2007, Huang, *et al.*, 2010) que contribui com a matéria orgânica, como evidenciado pelo aumento na concentração de n-alcanóis.

Esse aumento entre 1987 e 1990 é seguido de um decréscimo nas concentrações de colest-5-en-3 β -ol entre 1990-1993, onde as temperaturas diminuem, para abaixo de -2,5 °C em 1991) (Fig.6), indicando menor aporte de material orgânico das fontes desse esterol para o sedimento. Esse decréscimo nas concentrações também é observado no perfil do 24-metil-colest-5-en-3 β -ol (brassicasterol) e n-alcanóis, embora a diferença nas concentrações desses talvez não seja significativa (Fig.6).

Ainda no período B, as concentrações dos compostos voltam a aumentar entre 1993 e 1996, sendo registrado o maior pico de concentração do colest-5-en-3 β -ol, 24-metil-colesta-5,22E-dien-3 β -ol (campesterol) e 24-metil-colest-5-en-3 β -ol (Fig.6). Os demais compostos mantêm suas concentrações na mesma escala. Nesse período a temperatura se encontraram em torno de -2,5 °C, aumentando para -1,5 °C em 1994, e voltando para -2,5 °C novamente em 1996 (Setzer & Romão, 2008).

No período A, que corresponde aos anos entre 1999 a 2008 foram registradas as mais elevadas temperaturas médias (em torno de -1,5 °C), e somente em 2007, uma baixa temperatura média de -3,5 °C foi medida (Setzer & Romão, 2008). Esse decréscimo na média em 2007 também foi observado por Schloss *et al.* (2012), em

Potter Cove na Baía Maxwell, a qual se trata de um ambiente similar e relativamente próxima a Baía do Almirantado (Khim *et al.*, 2001). Com exceção do colest-5-en-3 β -ol, todos os demais compostos apresentam um aumento relativo nas suas concentrações (Fig.6).

Diversos autores vêm relatando o aquecimento na região da Península Antártica, pelo menos, nos últimos 50 anos (Turner *et al.*, 2005; Steig *et al.*, 2009; Schofield *et al.*, 2010; Simms *et al.*, 2011). A partir da comparação entre as variações da temperatura e concentração dos compostos, parece haver uma tendência de aumento nas concentrações dos esteróis relacionados a aumentos na temperatura média do ar, que pode intensificar processos de degelo. A produção primária pode aumentar com o degelo em função de gerar novas áreas livres de gelo (*icebergs*, geleiras e plataformas de gelo), promover uma maior estabilidade da coluna d'água (com a diminuição da salinidade e estratificação) ou pela maior disponibilidade de micronutrientes (carregados do continente por águas de degelo), como ferro, que em baixas concentrações, limita a produção primária no oceano sul (Clarke *et al.*, 2007, Ducklow, *et al.*, 2007). Bertolin & Scholoss (2009), observaram que o surgimento de novas áreas livres de gelo com processo de colapso da Plataforma de Gelo Larsen A, na região do Mar de Weddell, favoreceu um aumento na produção primária na área. O aumento na produção primária (fitoplâncton) e, por consequência, na produção secundária (zooplâncton) refletiria no maior aporte de matéria orgânica e culminaria nas maiores concentrações dos esteróis nos períodos citados com temperaturas mais elevadas.

Além disso, aumentos na concentração dos n-alcanóis C₂₄ e C₂₈ apontam para maior contribuição de musgos e líquens. O clima mais quente e mais áreas livres de gelo podem favorecer seus crescimentos bem como, águas de degelo também passam a carregar para dentro da Baía uma quantidade maior de material terrígeno.

Entretanto, no período A, onde as temperaturas são mais elevadas, o colest-5-en-3 β -ol apresenta concentrações mais baixas, podendo representar um efeito adverso do aumento de temperatura sobre os organismos. Trabalhos recentes (Atkinson *et al.*, 2004; Schofield *et al.*, 2010) apontam que em função do aumento de temperatura na região antártica, vem ocorrendo uma alteração na composição do fitoplâncton, afetando os demais níveis da cadeia trófica. Majewski & Tatur (2009) identificaram em sedimentos da Baía do Almirantado o foraminífero *Criboelphidium webbi*, uma espécie associada a áreas de retração de geleiras e, conseqüentemente, a pulsos de degelo. A presença desses organismos nos sedimentos pode estar relacionada eventos ocorridos entre 30-50 anos atrás, não sendo diretamente resultado de um único pulso de degelo, e sim, consequência do aumento da temperatura média ao longo dos últimos 50 anos.

Moline *et al.* (2004) encontrou que algas criptófitas dominam o ambiente em relação a diatomáceas em águas menos salinas e mais quentes, típicas de ocorrência de degelo. Essa mudança na composição do fitoplâncton leva a uma redução na biomassa de krills (Schofield *et al.*, 2010), que alimentam-se preferencialmente de células maiores, como diatomáceas, e são ineficientes em “pastar” células muito pequenas, como criptófitas, que por outro lado, favorecem o crescimento da população de salpas, que alimentam-se de algas criptófitas.

Krills biossintetizam colest-5-en-3 β -ol e, portanto, são fontes significativas desse composto para a matéria orgânica sedimentar, onde uma redução no tamanho da população desse organismo poderia alterar a concentração de colest-5-en-3 β -ol nos sedimentos. Por outro lado, 24-metil-colesta-5,22E-dien-3 β -ol é encontrado principalmente em diatomáceas, mas também em algas criptófitas e é um dos principais esteróis biossintetizados pelas salpas (Phleger *et al.*, 2002), e a presença desses

organismos poderia também alterar a concentração de 24-metil-colesta-5,22E-dien-3 β -ol nos sedimentos.

Essa redução no colest-5-en-3 β -ol também pode estar relacionada a declínios nas populações de animais superiores como pinguins, que vem sendo relatados para a região antártica (Sander *et al.*, 2007; Trivelpiece *et al.*, 2010).

Conclusão

Apesar dos processos de diagênese, o alto grau de preservação dos compostos permite inferir de forma confiável sobre variações e fontes de matéria orgânica na região, através do uso de esteróis e n-alcanóis, para o ambiente na Baía do Almirantado.

A partir das informações obtidas com os resultados desse trabalho ainda não é possível inferir de forma precisa quanto a uma correlação entre o aumento na temperatura da região com a concentração dos compostos analisados. Entretanto, os resultados mostram haver uma tendência no aumento da concentração de determinados compostos com o aumento na temperatura, entretanto não é possível afirmar se há relação com organismos que atuam como fontes desses esteróis e n-alcanóis, em função da ausência de dados mais acurados sobre hidrodinâmica, taxas de degradação e preservação da matéria orgânica e granulometria.

Porém, este estudo fornece informações preliminares de que a produção, a qualidade e o tipo de matéria orgânica depositada em sedimentos antárticos podem ser influenciados em diferentes escalas de magnitude pelas variações temporais de temperatura na Baía do almirantado. Complementarmente, mais estudos devem ser realizados na região, com um número maior de marcadores e mais específicos, como marcadores de degelo (em particular o IP₂₅ e 1,14 dialcoóis) e de temperatura da superfície do mar (como os glicerol dialquil-glicerol tetraeteres - GDGTs) para

estabelecer uma real conexão entre mudanças climáticas e suas consequências sobre o aporte de matéria orgânica e a fauna e flora na região.

Referências

- AMORRI, J., RODIER, C.G., BOUFAHJA, F., MAHMOUDI, E. AÏSSA, P., KSIBI, M., AMBLÈS, A. 2011. Organic matter compounds as source indicators and tracers for marine pollution in a western Mediterranean coastal zone. *Environmental Science Pollution Research* 18, 1606–1616.
- ARZAYUS, K.M., CANUEL, E.A. 2004. Organic matter degradation in sediments of the York River estuary: Effects of biological vs. physical mixing. *Geochimica et Cosmochimica Acta*, 69(2), 455–463.
- ATKINSON, A., SIEGEL, V., PAKHOMOV, E., ROTHERY, P. 2004. Long-term decline in krill stock and increase in salps within the Southern Ocean. *Nature*, 432, 100-103.
- BELICKA, L.L., MACDONALD, R.W., YUNKER, M.B., HARVEY, H.R. 2004. The role of depositional regime on carbon transport and preservation in Arctic Ocean sediments. *Marine Chemistry*, 86, 65– 88.
- BERTOLIN, M.L. SCHLOSS, I.R. 2009. Phytoplankton production after the collapse of the Larsen A Ice Shelf, Antarctica. *Polar Biology*, 32, 1435–1446.
- BIRGEL, D., STEIN, R., HEFTER, J. 2004. Aliphatic lipids in recent sediments of the Fram Strait/Yermak Plateau (Arctic Ocean): composition, sources and transport processes. *Marine Chemistry*, 88, 127– 160.
- BRAUN, M., GOSSMANN, H. 2002. Glacial changes in the areas of Admiralty Bay and Potter Cove, King George Island, maritime Antarctica. In BEYER, L. & BOLLNER, M., eds. *Geoecology and Antarctic ice-free coastal landscapes*. Berlin: Springer, 75–89.
- BROMBERG, S., NONATO, E.F., CORBISIER, T.N., PETTI, M.A.V. 2000. Polychaete distribution in the near-shore zone of Martel inlet, Admiralty Bay (King George Island, Antarctica). *Bulletin of Marine Science*, 67, 175–188.
- BURNS, K., BRINKMAN, D. 2011. Organic biomarkers to describe the major carbon inputs and cycling of organic matter in the central Great Barrier Reef region. *Estuarine, Coastal and Shelf Science*, 93, 132–141.
- CANUEL, E.A., MARTENS, C.S. 1993. Seasonal variations in the sources and alteration of organic matter associated with recently-deposited sediments. *Organic Geochemistry*, 20 (5), 563-577.
- CARREIRA, R.S., RIBEIRO, P.V., SILVA, C.E.M., FARIAS, C.O. 2009. Hidrocarbonetos e esteróis como indicadores de fontes e destino de matéria orgânica em sedimentos da Baía de Sepetiba, Rio de Janeiro. *Química Nova*, 32, 7, 1805-1811.
- CARREIRA, R.S., ARAÚJO, M.P., COSTA, T.L.F., SPÖRL, G., KNOPPERS, B.A. 2011. Lipids in the sedimentary record as markers of the sources and deposition of organic matter in a tropical Brazilian estuarine–lagoon system. *Marine Chemistry*, 127, 1–11.
- CASTAÑEDA, I. S., WERNE, J. P., JOHNSON, T. C., POWERS, L. A. 2011. Organic geochemical records from Lake Malawi (East Africa) of the last 700 years, part II: Biomarker evidence for recent changes in primary productivity. *Palaeogeography, Palaeoclimatology, Palaeoecology*, 303, 140–154.

- CHRISTODOULOU, S., MARTY, J.C., MIQUEL, J.C., VOLKMAN, J.K., RONTANI, J.F. 2009. Use of lipids and their degradation products as biomarkers for carbon cycling in the northwestern Mediterranean Sea. *Marine Chemistry*, 113, 25–40.
- CLARKE, A., MURPHY, E.J., MEREDITH, M.P., KING, J.C., PECK, L.S., BARNES, D.K.A., SMITH, R.C. 2007. Climate change and the marine ecosystem of the western Antarctic Peninsula. *Philosophical Transactions of the Royal Society. B*, 362, 149–166.
- DUCKLOW, H.W., BAKER, K., MARTINSON, D.G., QUETIN, L.B., ROSS, R.M., SMITH, C., STAMMERJOHN, S.E., VERNET, M., FRASER, W. 2012. Marine pelagic ecosystems: the West Antarctic Peninsula. 2007. *Philosophical Transactions of the Royal Society B: Biological Sciences*, 362, 67–94.
- FAUX, J.F., BELICKA, L.L., HARVEY, H.R. 2011. Organic sources and carbon sequestration in Holocene shelf sediments from the western Arctic Ocean. *Continental Shelf Research*, 31, 1169–1179.
- FERRON, F.A., SIMÕES, J.C., AQUINO, F.E., SETZER, A.W. 2004. Air temperature time series for King George Island, Antarctica. *Brazilian Antarctic Research*, 4, 155–169.
- FIGUEIRA, R.C.L., MARTINS, C.C., MONTONE, R.C., FIGUEIREDO, A.M.G., TESSLER, M.G., MAHIQUES, M.M., CUNHA, I.I.L. 2005. Pb-210, Ra-226 and Cs-137 levels and sedimentation rate in Admiralty bay, Antarctic Peninsula. 1st International nuclear chemistry Congress. Kusadasi, 289–290.
- FREITAS, F.S. 2008. Distribuição do fósforo (p) em sedimentos recentes da Baía do Almirantado, Península Antártica. Monografia, Universidade Federal do Paraná, Brasil.
- FRICKE, H., GERCKEN, G., SCHEREIBER, W., OEHLENSCHÄGER, J. Lipid, sterol, and fatty acid composition of Antarctic krill (*Euphausia superba* Dara). *Lipids*, 19 (11), 821–827.
- GOMÉZ-GUTIÉRREZ, A., TOLOSA, I., JOVER, E., BAYONA, J.M., ALBAIGÉS, J. 2011. Origin and vertical dynamics of particulate organic matter in a salt-wedge estuary, the Ebro Delta, inferred from lipid molecular markers and compound-specific isotope carbon analysis. *Marine Chemistry*, 126, 269–280.
- GREEN, G., NICHOLS, P.D. 1995. Hydrocarbons and sterols in marine sediments and soils at Davis Station, Antarctica: a survey for human-derived contaminants. *Antarctic Science* 7, 137–144.
- HARRIS, C.M., CARR, R., LORENZ, K., JONES, S. 2011. Important Bird Areas in Antarctica: Antarctic Peninsula, South Shetland Islands, South Orkney Islands – Final Report. Prepared for BirdLife International and the Polar Regions Unit of the UK Foreign & Commonwealth Office. Environmental Research & Assessment Ltd., Cambridge.
- HUANG, J. SUN, L., HUANG, W., WANG, X., WANG, Y. 2010. The ecosystem evolution of penguin colonies in the past 8,500 years on Vestfold Hills, East Antarctica. *Polar Biology*, 33, 1399–1406.
- HUANG, J., LIGUANG, S., WANG, X., WANG, Y., HUANG, T. 2011. Ecosystem evolution of seal colony and the influencing factors in the 20th century on Fildes Peninsula, West Antarctica. *Journal of Environmental Sciences*, 23(9), 1431–1436.
- HUDSON, E.D., PARRISH, C.C., HELLEUR, R.J.; 2001. Biogeochemistry of sterols in plankton, settling particles and recent sediments in a cold ocean ecosystem (Trinity Bay, Newfoundland). *Marine Chemistry*, 76, 253–270.
- JARAULA, C.M.B., BRASSEL, S.C., MORGAN-KISS, R.M., DORAN, P.T., KENIG, F. 2010. Origin and tentative identification of tri to pentaunsaturated ketones in sediments from Lake Fryxell, East Antarctica. *Organic Geochemistry*, 41, 386–397.

- JENG W.L., HAN, B.C. 1996. Sedimentary Coprostanol in Kaohsiung Harbour and Tan-Shui Estuary, Taiwan. *Marine Pollution Bulletin*, 28, 494-499.
- JENG, W., CHEN, M. 1995. Grain size effect on bound lipids in sediments off northeastern Taiwan. *Organic Geochemistry*, 23 (4), 301-310.
- JONES, P. D. 1990. Antarctic temperatures over the present century: A study of the early expedition record, *J. Clim.*, 3, 1193– 1203.
- KHIM, B., YOON, H.I., KIM, Y., SHIN, I.C. 2001. Late Holocene stable isotope chronology and meltwater discharge event in Maxwell and Admiralty bays, King George Island, Antarctica. *Antarctic Science*, 13, 167-173.
- KOPCZYŃSKA, E.E. 2008. Phytoplankton variability in Admiralty Bay, King George Island, South Shetland Islands: six years of monitoring. *Polish Polar Research*, 29 (2), 117-139.
- LANGE, P.K., TENENBAUM, D.R., BRAGA, E.S., CAMPOS, L.S. 2007. Microphytoplankton assemblages in shallow waters at Admiralty Bay (King George Island, Antarctica) during the summer 2002–2003. *Polar Biology*, 30, 1483–1492.
- LAUREILLARD J., PINTURIER, L., FILLAUX J., SALIOT, A. 1997. Organic geochemistry of marine sediments of the Subantarctic Indian Ocean sector: Lipid classes – sources and fate. *Deep-Sea Research II*, 44, 1085-1108.
- LAUREILLARD, J., SALIOT, A. 1993. Biomarkers in organic matter produced in estuaries: a case study of the Krka estuary (Adriatic Sea) using the sterol marker series. *Marine Chemistry*, 43, 247-261.
- LEAL, M.A., JOPPERT, M., LICÍNIO, V., EVANGELISTA, H., MALDONADO, J., DALIA, K.C., LIMA, C., BARROS LEITE, V., CORREA, S.M., MEDEIROS, G., DIAS da CUNHA, K. 2008. Atmospheric Impacts due to Anthropogenic Activities in Remote Areas: The Case Study of Admiralty Bay/King George Island/Antarctic Peninsula. *Water Air Soil Pollut*, 188, 67–80.
- LÜ, X., ZHAI, S. 2006. Distributions and sources of organic biomarkers in surface sediments from the Changjiang (Yangtze River) Estuary, China. *Continental Shelf Research*, 26, 1–14.
- MAJEWSKI, W., TATUR, A. 2009. A new Antarctic foraminiferal species for detecting climate change in sub-Recent glacier-proximal sediments. *Antarctic Science*, 21(5), 439–448.
- MARTINS, C.C., VENKATESAN, M.I., MONTONE, R.C. 2002. Sterols and linear alkylbenzenes in marine sediments from Admiralty Bay, King George Island, South Shetland Islands. *Antarctic Science* 14 (3), 244–252.
- MARTINS, C.C., BÍCEGO, M.C., ROSE, N.L., TANIGUCHI, S., LOURENÇO, R.A., FIGUEIRA, R.C.L., MAHIQUES, M.M., MONTONE, R.C. 2010. Historical record of polycyclic aromatic hydrocarbons (PAHs) and spheroidal carbonaceous particles (SCPs) in marine sediment cores from Admiralty Bay, King George Island, Antarctica. *Environmental Pollution*, 158, 192–200.
- MEYERS, P.A. 1997. Organic geochemical proxies of paleoceanographic, paleolimnologic, and paleoclimatic processes. *Organic Geochemistry*, 27(5/6), 213–250.
- MEYERS, P.A. 2003. Applications of organic geochemistry to paleolimnological reconstructions: a summary of examples from the Laurentian Great Lakes. *Organic Geochemistry*, 34, 261–289.

- MOLINE, M.A., CLAUSTRE, H., FRAZER, T.K., SCHOFIELD, O., VERNET, M. 2004. Alteration of the food web along the Antarctic Peninsula in response to a regional warming trend. *Global Change Biology*, 10, 1973–1980.
- MONIEN, P., SCHNETGER, B., BRUMSACK, H.R., HASS, H.C., KUHN, G. 2011. A geochemical record of late Holocene palaeoenvironmental changes at King George Island (maritime Antarctica). *Antarctic Science*, 23 (3), 255–267.
- MONTES-HUGO, M.A., VERNET, M., MARTINSON, D., SMITH, R., IANNUZZI, R. 2009. Variability on phytoplankton size structure in the western Antarctic Peninsula (1997– 2006). *Deep-Sea Research II*, 55, 2106– 2117.
- MONTONE, R.C., MARTINS, C.C., BÍCEGO, M.C., TANIGUCHI, S., SILVA, D.A.M., CAMPOS, L.S., WEBER, R.R. 2010. Distribution of sewage input in marine sediments around a maritime Antarctic research station indicated by molecular geochemical indicators. *Science of the Total Environment*, 408, 4665–4671.
- MURI, G., WAKEHAM, S.G., PEASE, T.K., FAGANELI, J. 2004. Evaluation of lipid biomarkers as indicators of changes in organic matter delivery to sediments from Lake Planina, a remote mountain lake in NW Slovenia. *Organic Geochemistry*, 35, 1083–1093.
- OLIVEIRA, E.C., ABSHRE, T.M., PELLIZZARI, F.M., OLIVEIRA, M.C. 2009. The seaweed flora of Admiralty Bay, King George Island, Antarctic. *Polar Biology*, 32, 1639–1647.
- PHLEGER, C.F., NELSON, M.M., MOONEY, B., NICHOL, P.D. 2000. Lipids of Antarctic salps and their commensal hyperiid amphipods. *Polar Biology*, 23, 329–337.
- RAKUSA-SUSZCZEWSKI, S. 1980. Environmental conditions and the functioning of Admiralty Bay (South Shetlands Islands) as part of near shore Antarctic ecosystem. *Polish Polar Research*, 1, 11–27.
- READMAN, J. W., PRESTON, M. R., MANTOURA, R. F. C. 1986. An integrated technique to quantify sewage, oil and PAH pollution in estuarine and coastal environments. *Marine Pollution Bulletin*, 17, 298–308.
- RONTANI, J.F., VOLKMAN, J.K. 2003. Phytol degradation products as biogeochemical tracers in aquatic environments. *Organic Geochemistry*, 34, 1–35.
- SANCHUN, J., ROGFEN, J., ZUOFENG, L. 1992. The evolution of stenols and stanols in marine sediments core from Beibu Bay, the South China Sea. *Chinese Journal of Oceanology and Limnology*, 10 (1), 92–96.
- SANDER, M. BALBÃO, T.C., COSTA, E.S., SANTOS, C.R., PETRY, M.V. 2007. Decline of the breeding population of *Pygoscelis Antarctica* and *Pygoscelis adeliae* on Penguin Island, South Shetland, Antarctica. *Polar Biology*. Cambridge, 30, 651–654.
- SCHLOSS, I.R., ABELE, D., MOREAU, S., DEMERS, S., BERS, A.V.; GONZÁLEZ, O., FERREYRA, G.A. 2012. Response of phytoplankton dynamics to 19-year (1991–2009) climate trends in Potter Cove (Antarctica). *Journal of Marine Systems*, 92, 53–66.
- SCHOFIELD, O., DUCKLOW, H.W., MARTINSON, D.G., MEREDITH, M.P., MOLINE, M.A., FRASER, W.R. 2010. How Do Polar Marine Ecosystems Respond to Rapid Climate Change? *Science*, 328, 1520–1523.
- SETZER, A., ROMÃO, M. 2008. Atenção pesquisador: Caiu a temperatura nos últimos 11 anos em Ferraz. XVI Simpósio Brasileiro Sobre Pesquisa Antártica. 7–8.
- SIERAKOWSKI, K. 1991. Birds and mammals in the region of SSSI No. 8 in the season 1988/89 (South Shetlands, King George Island, Admiralty Bay). *Polish Polar Research*, 12 (1), 25–54.

- SKERRATT, J. H.; P. D. NICHOLS, T. A. McMEEKIN & H. BURTON. 1995. Seasonal and inter-annual changes in planktonic biomass and community structure in eastern Antarctica using signature lipids. *Marine Chemistry*, 51, 93-113.
- SIMMS, A.R., MILLIKEN, K.T., ANDERSON, J.B., WELLNER, J.S. 2011. The marine record of deglaciation of the South Shetland Islands, Antarctica since the Last Glacial Maximum. *Quaternary Science Reviews*, 30, 1583-1601.
- STEIG, E.J., SCHNEIDER, D.P., RUTHERFORD, S.D., MANN, M.E., COMISO, J.C., SHINDELL, D.T. 2009. Warming of the Antarctic ice-sheet surface since the 1957 International Geophysical Year. *Nature*, 457, 459-462.
- TRIVELPIECE, W.Z., HINKE, J.T., MILLER, A.K., REISS, C.S., TRIVELPIECE, S.G., WATTERS, G.M. 2010. Variability in krill biomass links harvesting and climate warming to penguin population changes in Antarctica. www.pnas.org/cgi/doi/10.1073/pnas.1016560108
- TURNER, J., COLWELL, S., MARSHALL, G.J., LACHLAN-COPE, T.A., CARLETON, A.M., JONES, P.D., LAGUN, V., REID, P.A., IAGOVKINA, S. 2005. Antarctic climate change during the last 50 years. *International Journal of Climatology*, 25, 279-294.
- UNEP. 1992. Determination of petroleum hydrocarbons in sediments. United Nations Environment Programme Reference Methods for marine pollution studies, n°20, p. 1-75.
- USEPA. Method 3540. Soxhlet Extraction. CD-ROM. Revision 3, 1996, 1-8.
- USEPA. Method 3640. Gel-Permeation *Clean up*. CD-ROM. Revision 1, 1994, 2-24.
- VENKATESAN, M.I., SANTIAGO, C.A.. 1989. Sterols in oceans sediments: novel tracers to examine habitats of cetaceans, pinnipeds, penguins and humans. *Marine Biology*, 102, 431-437.
- VENKATESAN, M.I., RUTH, E., KAPLAN, I. R. 1986. Coprostanols in Antarctic Marine Sediements: A biomarker for marine mammals and not human pollution. *Marine Pollution Bulletin*, 17, (12), 554-557.
- VOLKMAN, J.K. 1986. A review of sterol markers for marine and terrigenous organic matter. *Organic Geochemistry*, 9, 83-100.
- VOLKMAN, J.K. 2005. Sterols and other triterpenoids: source specefety and evolution of biosynthetic pathways. *Organic Geochemistry*, 36, 139-159.
- VOLKMAN, J.K. 2006. Lipid Markers for Marine Organic Matter. *The Handbook of Environmental Chemistry*, 2, PART N, 27-70.
- VOLKMAN, J.K., REVILL, A.T., HOLDSWORTH, D.G., FREDERICKS, D. 2008. Organic matter sources in an enclosed coastal inlet assessed using lipid biomarkers and stable isotopes. *Organic Geochemistry* 39, 689-710.
- WADE, T.L., CANTILLO, A.Y. 1996. Use of standards and reference materials in the measurement of chlorinated hydrocarbon residues. IGOSS Plan and Implementation Programme 1996-2003. IOC Technical Series 43, UNESCO.
- WAKEHAM, S.G., CANUEL, E.A. 2006. Degradation and Preservation of Organic Matter in Marine Sediments. *The Handbook of Environmental Chemistry*, 2, PART N, 295-321.
- WANG, J., WANG, Y., WANG, X., SUN, L. 2007. Penguins and vegetations on Ardley Island, Antarctica: evolution in the past 2,400 years. *Polar Biology*, 30 1475-1481.

XIONG, Y., WU, F., FANG, J., WANG, L., LI, Y., LIAO, H. 2010. Organic geochemical record of environmental changes in Lake Dianchi, China. *Journal of Paleolimnology*, 44, 217–231.

YOSHINAGA, M.Y., SUMIDA, P.Y.G., WAKEHAM, S.G. 2008. Lipid biomarkers in surface sediments from an unusual coastal upwelling area from the SW Atlantic Ocean. *Organic Geochemistry*, 39, 1385–1399.

Material Suplementar

TABELA 1aS. CONCENTRAÇÃO DOS ESTERÓIS (EM $\mu\text{g.g}^{-1}$) AO LONGO DAS SEÇÕES 0-1 A 14-15 (EM cm) DO TESTEMUNHO DE FERRAZ
< LDM: abaixo do limite de detecção do método (< 0,005 $\mu\text{g.g}^{-1}$)

Esterol/Seção(cm)	0-1	1-2	2-3	3-4	4-5	5-6	6-7	7-8	8-9	9-10	10-11	11-12	12-13	13-14	14-15
5 β -colestano-3 β -ol	0,15	0,07	0,04	0,04	0,04	0,07	0,05	0,03	0,03	0,04	0,04	0,04	0,03	0,03	0,04
5 β -colestano-3 α -ol	0,12	0,06	0,05	0,03	0,03	0,03	0,03	0,03	0,03	0,04	0,03	0,03	0,03	0,03	0,03
coprostanona	0,99	0,58	0,45	0,41	0,68	0,46	0,52	0,33	0,26	0,33	0,37	0,35	0,30	0,32	0,35
colesta-5,22E-dien-3 β -ol	0,32	0,16	0,11	0,12	0,69	0,08	0,09	0,07	0,07	0,08	0,09	0,07	0,07	0,06	0,09
colesta-22E-en-3 β -ol	0,24	0,14	0,10	0,07	0,08	0,07	0,06	0,05	0,05	0,05	0,05	0,05	0,05	0,04	0,05
colestano	0,20	0,20	0,23	0,31	0,58	0,26	0,61	0,32	0,17	0,25	0,26	0,24	0,20	0,20	0,26
colest-5-en-3 β -ol	1,88	1,10	1,45	3,72	9,76	2,79	6,54	1,70	1,04	0,92	1,24	0,94	1,29	0,86	1,22
5 α -colestano-3 β -ol	1,27	0,94	0,75	0,52	0,75	0,57	0,49	0,44	0,33	0,46	0,41	0,37	0,31	0,32	0,38
24-metil-colesta-5,22E-dien-3 β -ol	0,76	0,47	0,29	0,10	0,73	0,18	0,18	0,16	0,15	0,20	0,17	0,18	0,15	0,06	0,12
24-metil-colesta-22E-en-3 β -ol	0,18	0,21	0,16	0,11	0,08	0,12	0,09	0,13	0,10	0,14	0,13	0,06	0,06	0,07	0,09
24-metil-colest-5-en-3 β -ol	1,23	1,61	0,41	0,21	0,52	0,09	0,23	0,30	0,40	0,40	0,32	0,29	0,24	0,25	0,25
24-metil-colestano-3 β -ol	0,97	0,16	0,05	0,07	0,07	0,07	0,03	0,08	0,04	0,13	0,04	0,08	0,08	0,02	0,02
24-etil-colesta-5,22E-dien-3 β -ol	0,55	0,40	0,36	0,27	0,27	0,24	0,21	0,21	0,18	0,26	0,26	0,23	0,19	0,18	0,19
24-etil-colesta-22E-en-3 β -ol	0,58	0,45	0,28	0,14	0,14	0,11	0,19	0,05	0,04	0,04	0,06	0,05	0,05	0,08	0,09
24-etil-colest-5-en-3 β -ol	0,93	0,60	0,51	0,43	0,25	0,37	0,30	0,30	0,29	0,42	0,34	0,30	0,26	0,26	0,29
24-etil-colestano-3 β -ol	0,48	0,33	0,31	0,27	0,26	0,26	0,24	0,22	0,21	0,28	0,23	0,21	0,19	0,20	0,19
4 α ,23,24-trimetil-colesta-22E-en-3 β -ol	0,62	0,39	0,30	0,26	0,32	0,34	0,25	0,31	0,24	0,30	0,28	0,25	0,22	0,22	0,22

TABELA 1bS. CONCENTRAÇÃO DOS ESTERÓIS (EM $\mu\text{g.g}^{-1}$) AO LONGO DAS SEÇÕES 15-16 A 31-32 (EM cm) DO TESTEMUNHO DE FERRAZ
< LDM: abaixo do limite de detecção do método (< 0,005 $\mu\text{g.g}^{-1}$)

Esterol/Seção (cm)	15-16	16-17	17-18	19-20	20-21	21-22	22-23	23-24	24-25	25-26	26-27	27-28	28-29	29-30	31-32
--------------------	-------	-------	-------	-------	-------	-------	-------	-------	-------	-------	-------	-------	-------	-------	-------

5 β -colestan-3 β -ol	0,04	0,11	0,05	0,05	0,10	0,09	0,08	0,06	0,05	0,06	0,06	0,04	0,06	0,06	0,04
5 β -colestan-3 α -ol	0,03	0,08	0,06	0,05	0,09	0,11	0,06	0,05	0,04	0,04	0,04	0,04	0,04	0,04	0,04
coprostanona	0,41	0,74	0,54	0,56	1,36	0,54	0,59	0,57	0,42	0,50	0,42	0,30	0,49	0,43	0,38
colesta-5,22E-dien-3 β -ol	0,05	0,08	0,07	0,06	0,09	0,06	0,08	0,06	0,07	0,08	0,08	0,06	0,08	0,07	0,05
colesta-22E-en-3 β -ol	0,04	0,06	0,04	0,06	0,04	0,05	0,05	0,05	0,05	0,05	0,05	0,05	0,06	0,06	0,04
colestanona	0,29	0,46	0,42	0,43	0,57	0,50	0,51	0,45	0,27	0,47	0,53	0,24	0,39	0,31	0,24
colest-5-en-3 β -ol	1,43	4,82	3,69	1,69	<u>8,89</u>	3,61	4,31	1,87	1,03	3,32	<u>6,35</u>	1,19	4,04	2,61	0,73
5 α -colestan-3 β -ol	0,38	<u>1,16</u>	0,55	0,49	<u>0,71</u>	0,86	0,65	0,58	0,42	0,50	0,54	0,45	<u>1,05</u>	0,59	0,38
24-metil-colesta-5,22E-dien-3 β -ol	0,07	0,12	0,12	0,14	0,07	0,14	0,13	0,13	0,14	0,12	0,13	0,15	0,15	0,16	0,11
24-metil-colesta-22E-en-3 β -ol	0,07	<u>0,11</u>	0,28	0,09	0,05	0,10	0,05	0,11	0,09	0,08	0,10	0,11	0,13	0,14	0,08
24-metil-colest-5-en-3 β -ol	0,25	0,26	0,24	0,26	0,17	0,30	0,28	0,23	0,25	0,31	0,40	0,37	0,33	0,14	0,24
24-metil-colestan-3 β -ol	0,05	0,07	0,03	0,03	0,02	0,09	0,08	0,07	0,03	0,02	0,06	0,12	0,17	0,03	0,07
24-etil-colesta-5,22E-dien-3 β -ol	0,16	0,22	0,17	0,20	0,12	0,20	0,20	0,17	0,19	0,18	0,23	0,22	0,24	0,20	0,16
24-etil-colesta-22E-en-3 β -ol	0,09	0,42	0,25	0,34	<u>0,40</u>	0,54	0,48	0,27	0,13	0,27	0,22	0,11	0,21	0,33	0,14
24-etil-colest-5-en-3 β -ol	0,22	0,24	0,20	0,21	0,14	0,24	0,23	0,21	0,22	0,22	0,29	0,27	0,34	0,30	0,21
24-etil-colestan-3 β -ol	0,17	0,21	0,18	0,21	0,15	0,26	0,22	0,19	0,21	0,21	0,23	0,21	0,30	0,23	0,17
4 α ,23,24-trimetil-colesta-22E-en-3 β -ol	0,18	0,24	0,25	<u>0,53</u>	0,18	0,35	0,26	0,24	0,25	0,24	0,28	0,28	0,23	0,23	0,18

TABELA 2S. CONCENTRAÇÃO DOS ESTERÓIS (EM $\mu\text{g.g}^{-1}$) EM CADA SEÇÃO (EM cm) DO TESTEMUNHO DE BARREL POINT.
< LDM: abaixo do limite de detecção do método (< 0,005 $\mu\text{g.g}^{-1}$)

Esterol/Seção (cm)	0-1	1-2	2-4	5-6	7-8	10-11	11-12	12-13	13-14	14-16
5 β -colestan-3 β -ol	0,01	0,01	0,01	0,01	0,01	0,01	0,01	0,00	0,01	0,00
5 β -colestan-3 α -ol	0,01	0,01	0,01	0,01	0,01	0,01	0,01	0,00	0,01	0,00
coprostanona	0,06	0,08	0,02	0,02	0,07	0,06	0,03	0,00	0,04	0,02
colesta-5,22E-dien-3 β -ol	0,09	0,11	0,07	0,07	0,12	0,11	0,05	0,06	0,05	0,04
colesta-22E-en-3 β -ol	0,03	0,05	0,01	0,03	0,02	0,04	0,03	0,00	0,03	0,02
colestanona	0,03	0,03	0,03	0,03	0,04	0,04	0,02	0,00	0,02	0,01
colest-5-en-3 β -ol	0,38	0,52	0,26	0,40	0,72	0,60	0,18	0,19	0,25	0,11
5 α -colestan-3 β -ol	0,13	0,17	0,06	0,13	0,16	0,15	0,09	0,08	0,09	0,05

24-metil-colesta-5,22E-dien-3 β -ol	0,10	0,13	0,17	0,09	0,11	0,20	0,11	0,14	0,10	0,08
24-metil-colesta-22E-en-3 β -ol	0,05	0,02	0,05	0,05	0,06	0,15	0,11	0,10	0,08	0,07
24-metil-colest-5-en-3 β -ol	0,01	0,02	0,04	0,09	0,07	0,05	0,06	0,04	0,05	0,01
24-metil-colestan-3 β -ol	0,01	0,01	0,01	0,01	0,02	0,02	0,02	0,02	0,02	0,02
24-etil-colesta-5,22E-dien-3 β -ol	0,07	0,07	0,07	0,11	0,09	0,20	0,14	0,13	0,16	0,11
24-etil-colesta-22E-en-3 β -ol	0,02	0,04	0,03	0,04	0,02	0,04	0,04	0,04	0,06	0,05
24-etil-colest-5-en-3 β -ol	0,27	0,30	0,23	0,30	0,26	0,31	0,15	0,17	0,18	0,14
24-etil-colestan-3 β -ol	0,11	0,12	0,10	0,12	0,15	0,13	0,06	0,07	0,11	0,10
4 α ,23,24-trimetil-colesta-22E-en-3 β -ol	0,13	0,15	0,13	0,15	0,14	0,15	0,10	0,09	0,11	0,11

TABELA 3S. CONCENTRAÇÃO DOS ESTERÓIS (EM $\mu\text{g.g}^{-1}$) AO LONGO DE CADA SEÇÃO (EM cm) DO TESTEMUNHO DE REFÚGIO II.
< LDM: abaixo do limite de detecção do método (< 0,005 $\mu\text{g.g}^{-1}$)

Esterol/Seção (cm)	0-2	2-4	4-6	6-8	8-10	10-12	12-14	14-16	16-18	18-20	20-22	22-24	24-26	26-28
5 β -colestan-3 β -ol	0,03	0,04	0,05	0,06	0,02	0,02	0,02	0,02	0,01	0,01	0,02	0,03	0,03	0,01
5 β -colestan-3 α -ol	0,02	0,06	0,06	0,03	0,04	0,04	0,03	0,03	0,02	0,03	0,02	0,05	0,05	0,04
coprostanona	0,43	0,35	0,51	0,46	0,15	0,17	0,09	0,08	0,08	0,10	0,07	0,09	0,14	0,08
colesta-5,22E-dien-3 β -ol	0,90	0,41	0,64	0,19	0,12	0,10	0,09	0,08	0,04	0,06	0,06	0,10	0,09	0,05
colesta-22E-en-3 β -ol	0,13	0,14	0,12	0,12	0,07	0,08	0,07	0,08	0,05	0,06	0,05	0,11	0,09	0,04
colestanona	0,16	0,13	0,16	0,18	0,12	0,11	0,10	0,06	0,05	0,06	0,04	0,11	0,09	0,05
colest-5-en-3 β -ol	1,78	2,51	2,33	1,17	0,66	0,51	0,43	0,32	0,18	0,28	0,24	0,34	0,48	0,17
5 α -colestan-3 β -ol	0,96	1,11	0,80	0,87	0,50	0,47	0,34	0,35	0,21	0,26	0,25	0,40	0,28	0,13
24-metil-colesta-5,22E-dien-3 β -ol	0,57	0,61	0,82	0,58	0,14	0,09	0,17	0,12	0,04	0,13	0,08	0,25	0,09	0,08
24-metil-colesta-22E-en-3 β -ol	1,10	0,10	0,15	0,31	0,12	0,08	0,10	0,14	0,08	0,13	0,15	0,36	0,16	0,04
24-metil-colest-5-en-3 β -ol	0,53	0,46	0,66	0,29	0,08	0,04	0,05	0,09	0,02	0,03	0,02	0,03	0,08	0,05
24-metil-colestan-3 β -ol	0,14	0,17	0,15	0,07	0,05	0,02	0,02	0,07	0,03	0,02	0,02	0,02	0,08	0,05
24-etil-colesta-5,22E-dien-3 β -ol	0,48	0,42	0,61	0,31	0,13	0,16	0,39	0,51	0,29	0,39	0,29	0,20	0,31	0,20
24-etil-colesta-22E-en-3 β -ol	0,22	0,17	0,18	0,22	0,11	0,13	0,07	0,07	0,05	0,08	0,06	0,12	0,10	0,07
24-etil-colest-5-en-3 β -ol	1,33	0,81	1,01	0,98	0,63	0,31	0,27	0,56	0,35	0,53	0,46	0,60	0,56	0,33

24-etil-colestan-3β-ol	0,14	0,28	0,33	0,46	0,32	0,33	0,28	0,38	0,27	0,36	0,34	0,44	0,37	0,24
4α,23,24-trimetil-colesta-22E-en-3β-ol	0,26	0,27	0,42	0,39	0,24	0,25	0,22	0,30	0,15	0,21	0,15	0,17	0,17	0,13

TABELA 4S. CONCENTRAÇÃO DOS N-ALCANÓIS E FITOL (EM $\mu\text{g.g}^{-1}$) AO LONGO DE CADA SEÇÃO (EM cm) DO TESTEMUNHO DE BARREL POINT.
 < LDM: abaixo do limite de detecção do método (< 0,018 $\mu\text{g.g}^{-1}$)

n-Alcanol/Seção(cm)	0-1	1-2	2-4	5-6	7-8	10-11	11-12	13-14	14-16
n-C₁₂OH	0,04	0,01	0,06	0,06	0,05	0,06	0,03	0,04	0,05
n-C₁₃OH	0,04	0,01	0,03	0,03	0,03	0,04	0,01	0,02	0,02
n-C₁₄OH	0,07	0,04	0,08	0,07	0,09	0,08	0,04	0,05	0,03
n-C₁₅OH	0,02	0,02	0,02	0,02	0,04	0,02	< LDM	0,03	0,01
n-C₁₆OH	0,08	0,08	0,09	0,09	0,09	0,09	0,07	0,07	0,06
n-C₁₇OH	0,01	< LDM	< LDM	0,01	0,01	0,01	< LDM	0,01	0,01
n-C₁₈OH	0,05	0,03	0,03	0,03	0,04	0,23	0,00	0,04	0,03
n-C₁₉OH	0,02	0,00	0,01	0,01	0,01	0,01	0,01	0,01	0,01
n-C₂₀OH	0,02	0,02	0,02	0,02	0,03	0,02	0,02	0,02	0,02
n-C₂₄OH	0,02	0,02	0,01	0,01	0,01	0,01	0,01	0,01	0,01
n-C₂₆OH	0,01	0,01	0,01	0,01	0,01	0,01	0,01	< LDM	< LDM
n-C₂₇OH	0,01	0,02	0,01	0,01	0,01	< LDM	< LDM	< LDM	< LDM
n-C₂₈OH	0,01	0,01	0,01	0,01	0,01	< LDM	< LDM	< LDM	< LDM
n-C₂₉OH	< LDM	< LDM	< LDM	< LDM	< LDM	< LDM	< LDM	< LDM	< LDM
n-Alcanóis Leves	0,35	0,21	0,34	0,34	0,39	0,56	0,18	0,29	0,24
n-Alcanóis Pesados	0,05	0,06	0,04	0,04	0,04	0,02	0,02	0,01	0,01
fitol	0,21	0,24	0,19	0,23	0,26	0,23	0,17	0,19	0,18

TABELA 5S. CONCENTRAÇÃO DOS N-ALCANÓIS E FITOL (EM $\mu\text{g.g}^{-1}$) AO LONGO DE CADA SEÇÃO (EM cm) DO TESTEMUNHO DE REFÚGIO II.
 < LDM: abaixo do limite de detecção do método (< 0,018 $\mu\text{g.g}^{-1}$)

n-Alcanol/Seção (cm)	0-2	2-4	4-6	6-8	8-10	10-12	12-14	14-16	16-18	18-20	20-22	22-24	24-26	26-28
n-C₁₂OH	0,07	0,05	0,07	0,10	0,09	0,06	0,06	0,03	0,04	0,06	0,05	0,07	0,03	0,03
n-C₁₃OH	0,02	0,03	0,03	0,03	0,01	0,03	0,02	0,02	0,02	0,02	0,02	0,02	0,01	0,02
n-C₁₄OH	0,06	0,05	0,12	0,11	0,07	0,07	0,04	0,04	0,03	0,05	0,03	0,03	0,03	0,01
n-C₁₅OH	0,00	0,03	0,03	0,03	0,02	0,02	0,02	0,01	0,01	0,01	0,06	0,04	0,01	0,02
n-C₁₆OH	0,21	0,22	0,20	0,72	1,54	0,34	0,52	0,34	0,21	0,49	0,27	0,35	0,16	0,15
n-C₁₇OH	0,02	0,01	0,02	0,01	0,01	0,01	0,01	< LDM	0,01	0,01	< LDM	< LDM	0,01	< LDM
n-C₁₈OH	0,09	0,07	0,08	0,16	0,28	0,07	0,11	0,09	0,04	0,10	0,07	0,09	0,05	0,04
n-C₁₉OH	0,02	0,01	0,02	0,02	0,02	0,02	0,01	0,01	0,01	0,01	0,01	0,01	0,01	0,01
n-C₂₀OH	< LDM	0,01	0,03	0,03	0,02	0,02	0,02	0,02	0,02	0,02	0,02	0,03	0,03	0,01
n-C₂₄OH	0,02	0,01	0,03	0,02	0,02	0,02	0,02	0,02	0,01	0,02	0,02	0,02	0,02	0,01
n-C₂₆OH	< LDM	0,04	0,05	0,04	0,02	0,02	0,01	0,02	0,01	0,01	0,01	0,01	0,01	0,01
n-C₂₇OH	0,03	0,03	0,05	0,06	0,04	0,04	0,03	0,03	0,02	0,02	0,02	0,04	0,03	0,02
n-C₂₈OH	< LDM	< LDM	0,01	0,04	< LDM	< LDM	0,02	< LDM	< LDM	< LDM	0,02	< LDM	< LDM	< LDM
n-C₂₉OH	0,24	< LDM	< LDM	0,04	< LDM	< LDM	< LDM	< LDM	< LDM	< LDM	0,02	< LDM	< LDM	< LDM
n-Alcanóis Leves	0,49	0,48	0,6	1,21	2,06	0,64	0,81	0,56	0,39	0,77	0,53	0,64	0,34	0,29
n-Alcanóis Pesados	0,29	0,08	0,14	0,20	0,08	0,08	0,08	0,07	0,04	0,05	0,09	0,07	0,06	0,04
fitol	2,392	0,888	0,589	0,368	0,315	0,306	0,243	0,152	0,13	0,255	0,188	0,291	0,272	0,181

TABELA 6aS. CONCENTRAÇÃO DOS N-ALCANÓIS E FITOL (EM $\mu\text{g.g}^{-1}$) AO LONGO DAS SEÇÕES 0-1 A 14-15 (EM cm) DO TESTEMUNHO DE FERRAZ
 < LDM: abaixo do limite de detecção do método (< 0,018 $\mu\text{g.g}^{-1}$)

n-Alcanol/Seção (cm)	0-1	1-2	2-3	3-4	4-5	5-6	6-7	7-8	8-9	9-10	10-11	11-12	12-13	13-14	14-15
n-C₁₂OH	0,09	0,08	0,09	0,06	0,06	0,05	0,07	0,06	0,05	0,06	0,07	0,04	0,05	0,06	0,05
n-C₁₃OH	0,04	0,05	0,06	0,05	0,04	0,04	0,03	0,03	0,03	0,06	0,04	0,06	0,03	0,03	0,04

n-C₁₄OH	0,17	0,13	0,23	0,10	0,13	0,12	0,08	0,14	0,06	0,08	0,08	0,06	0,06	0,09	0,06
n-C₁₅OH	< LDM	< LDM	0,02	0,02	0,03	0,00	0,02	< LDM	< LDM	0,00	< LDM	< LDM	< LDM	< LDM	< LDM
n-C₁₆OH	0,19	0,18	0,18	0,16	0,22	0,14	0,00	0,12	0,10	0,16	0,26	0,20	0,21	0,11	0,18
n-C₁₇OH	< LDM	0,01	0,01	0,01	< LDM	0,01	0,01	0,01	0,01	0,01	0,01	0,01	0,01	0,01	0,01
n-C₁₈OH	0,05	< LDM	0,07	0,07	0,08	0,08	0,08	0,07	0,06	0,09	0,10	0,08	0,08	0,06	0,09
n-C₁₉OH	< LDM	< LDM	0,02	< LDM	0,01	< LDM	< LDM	< LDM	< LDM	< LDM	< LDM	0,00	< LDM	0,01	< LDM
n-C₂₀OH	0,13	0,11	0,00	< LDM	< LDM	0,03	0,03	< LDM	< LDM	< LDM	0,03	0,03	0,02	0,03	0,03
n-C₂₄OH	1,01	0,02	0,03	0,02	< LDM	0,02	1,32	0,02	< LDM	0,02	0,02	0,03	0,02	0,02	0,02
n-C₂₆OH	0,03	0,03	0,02	0,01	0,01	0,01	0,01	0,01	0,01	0,02	0,01	0,01	0,01	0,01	0,01
n-C₂₇OH	0,13	0,04	0,06	0,05	0,06	0,05	0,05	0,04	0,03	0,05	0,05	0,05	0,03	0,04	0,05
n-C₂₈OH	< LDM	0,06	0,05	0,03	0,03	0,01	0,03	0,02	< LDM	0,02	0,01	< LDM	< LDM	< LDM	< LDM
n-C₃₀OH	0,13	0,05	< LDM	< LDM	< LDM	< LDM	< LDM	< LDM	< LDM	< LDM	< LDM	< LDM	< LDM	0,00	< LDM
n-Alcanóis Leves	0,67	0,56	0,68	0,47	0,57	0,47	0,32	0,43	0,31	0,46	0,59	0,48	0,46	0,40	0,46
n-Alcanóis Pesados	1,30	0,20	0,16	0,11	0,10	0,09	1,41	0,09	0,04	0,11	0,09	0,09	0,06	0,07	0,08
fitol															

TABELA 6b5. CONCENTRAÇÃO DOS N-ALCANÓIS E FITOL (EM $\mu\text{g.g}^{-1}$) AO LONGO DAS SEÇÕES 15-16 A 31-32 (EM cm) DO TESTEMUNHO DE FERRAZ
 < LDM: abaixo do limite de detecção do método (< 0,018 $\mu\text{g.g}^{-1}$)

n-Alcanol/Seção (cm)	15-16	16-17	17-18	19-20	20-21	21-22	22-23	23-24	24-25	25-26	26-27	27-28	28-29	29-30	31-32
n-C₁₂OH	0,06	0,13	0,06	0,07	0,09	0,06	0,08	0,05	0,07	0,06	0,09	0,07	0,06	0,06	0,06
n-C₁₃OH	0,07	0,07	0,04	0,06	0,03	0,06	0,06	0,04	0,06	0,06	0,05	0,05	0,07	0,06	0,05
n-C₁₄OH	0,07	0,06	0,06	0,10	0,10	0,12	0,07	0,08	0,07	0,06	0,09	0,07	0,06	0,06	0,05
n-C₁₅OH	0,01	< LDM	0,00	< LDM	0,01	< LDM	0,01	0,01	0,02	0,01	0,02	0,01	0,01	0,02	0,01
n-C₁₆OH	0,16	0,82	0,17	< LDM	0,27	< LDM	0,04	< LDM	0,04	0,17	0,41	0,10	0,09	0,17	0,13
n-C₁₇OH	0,01	< LDM	0,01	0,01	0,01	< LDM	0,01	0,01	0,01	0,01	0,01	0,01	0,01	0,01	0,01
n-C₁₈OH	0,09	0,15	0,05	0,03	0,06	0,04	0,05	0,02	0,05	0,05	0,09	0,06	0,06	0,07	0,07
n-C₁₉OH	0,01	0,01	< LDM	< LDM	0,01	< LDM	0,01	< LDM	0,01	0,01	0,01	< LDM	0,02	0,01	0,01

n-C₂₀OH	0,03	0,02	0,03	0,02	0,02	0,03	0,02	0,02	0,02	0,02	0,03	0,03	0,02	0,02	0,02
n-C₂₄OH	< LDM	0,02	0,02	0,02	0,02	0,02	0,02	0,02	0,02	0,02	0,02	0,02	0,02	0,02	0,02
n-C₂₆OH	0,01	0,01	0,01	0,01	0,01	0,01	0,01	0,01	0,01	0,01	0,02	0,01	0,01	0,01	0,01
n-C₂₇OH	0,06	0,21	0,07	0,08	0,10	0,12	0,13	0,08	0,06	0,06	0,05	0,06	0,06	0,07	0,04
n-C₂₈OH	< LDM	0,02	< LDM	< LDM	0,04	0,02	0,03	< LDM	< LDM	< LDM	0,02	< LDM	< LDM	0,02	0,02
n-C₃₀OH	< LDM	< LDM	< LDM	< LDM	< LDM	< LDM	< LDM	< LDM	< LDM	< LDM	< LDM	< LDM	< LDM	< LDM	< LDM
n-Alcanóis Leves	0,51	1,26	0,42	0,21	0,60	0,24	0,35	0,11	0,35	0,45	0,80	0,40	0,40	0,48	0,41
n-Alcanóis Pesados	0,07	0,26	0,10	0,11	0,17	0,17	0,19	0,11	0,09	0,09	0,11	0,09	0,09	0,12	0,09
fitol															

TABELA 7S – VALORES DAS RAZÕES ENTRE OS ESTERÓIS BIOGÊNICOS INSATURADOS E SATURADOS E ORIGEM DOS ESTERÓIS C₂₇ A C₂₉, MÉDIA E DESVIO PADRÃO (DP) AO LONGO DO TESTEMUNHO DE BARREL POINT.

n.c.: não calculado (um dos compostos apresentou concentração abaixo do LDM).

Razão/Seção (cm)	0-1	1-2	2-4	5-6	7-8	10-11	11-12	12-13	13-14	14-16
dehidro-e/dehidro-a	0,3	0,5	0,1	0,4	0,2	0,4	0,6	n.c.	0,6	0,5
col-e/col-a	0,3	0,3	0,2	0,3	0,2	0,3	0,5	0,4	0,4	0,5
bras-e/bras-a	1,0	0,5	0,3	0,1	0,3	0,4	0,3	0,5	0,4	2,0
camp-e/camp-a	1,0	0,5	0,3	0,1	0,3	0,4	0,3	0,5	0,4	2,0
estig-e/estig-a	0,3	0,6	0,4	0,4	0,2	0,2	0,3	0,3	0,4	0,5
sito-e/sito-a	0,4	0,4	0,4	0,4	0,6	0,4	0,4	0,4	0,6	0,7
Média	0,6	0,5	0,3	0,3	0,3	0,3	0,4	0,4	0,5	1,0
DP	0,3	0,1	0,1	0,1	0,1	0,1	0,1	0,2	0,1	0,7

TABELA 8S – VALORES DAS RAZÕES ENTRE OS ESTERÓIS BIOGÊNICOS INSATURADOS E SATURADOS E ORIGEM DOS ESTERÓIS C₂₇ A C₂₉, MÉDIA E DESVIO PADRÃO (DP) AO LONGO DO TESTEMUNHO DE REFÚGIO II.

Razão/Seção (cm)	0-2	2-4	4-6	6-8	8-10	10-12	12-14	14-16	16-18	18-20	20-22	22-24	24-26	26-28
dehidro-e/dehidro-a	0,1	0,3	0,2	0,6	0,6	0,8	0,8	1,0	1,3	1,0	0,8	1,1	1,0	0,8
col-e/col-a	0,5	0,4	0,3	0,7	0,8	0,9	0,8	1,1	1,2	0,9	1,0	1,2	0,6	0,8
bras-e/bras-a	1,9	0,2	0,2	0,5	0,9	0,9	0,6	1,2	2,0	1,0	1,9	1,4	1,8	0,5
camp-e/camp-a	0,3	0,4	0,2	0,2	0,6	0,5	0,4	0,8	1,5	0,7	1,0	0,7	1,0	1,0
estig-e/estig-a	0,5	0,4	0,3	0,7	0,8	0,8	0,2	0,1	0,2	0,2	0,2	0,6	0,3	0,4
sito-e/sito-a	0,1	0,3	0,3	0,5	0,5	1,1	1,0	0,7	0,8	0,7	0,7	0,7	0,7	0,7
Média	0,6	0,3	0,3	0,6	0,7	0,8	0,6	0,8	1,1	0,7	0,9	1,0	0,9	0,7
DP	0,6	0,1	0,1	0,2	0,1	0,2	0,3	0,3	0,6	0,3	0,5	0,3	0,5	0,2

TABELA 9aS – VALORES DAS RAZÕES ENTRE OS ESTERÓIS BIOGÊNICOS INSATURADOS E SATURADOS E ORIGEM DOS ESTERÓIS C₂₇ A C₂₉, MÉDIA E DESVIO PADRÃO (DP) AO LONGO DAS SEÇÕES 0-1 A 14-15 (EM CM) TESTEMUNHO DE FERRAZ.

Razão/Seção (cm)	0-1	1-2	2-3	3-4	4-5	5-6	6-7	7-8	8-9	9-10	10-11	11-12	12-13	13-14	14-15
dehidro-e/dehidro-a	0,8	0,9	0,9	0,6	0,1	0,9	0,7	0,7	0,7	0,6	0,6	0,7	0,7	0,7	0,6
col-e/col-a	0,7	0,9	0,5	0,1	0,1	0,2	0,1	0,3	0,3	0,5	0,3	0,4	0,2	0,4	0,3
bras-e/bras-a	0,2	0,4	0,6	1,1	0,1	0,7	0,5	0,8	0,7	0,7	0,8	0,3	0,4	1,2	0,8
camp-e/camp-a	0,8	0,1	0,1	0,3	0,1	0,8	0,1	0,3	0,1	0,3	0,1	0,3	0,3	0,1	0,1
estig-e/estig-a	1,1	1,1	0,8	0,5	0,5	0,5	0,9	0,2	0,2	0,2	0,2	0,2	0,3	0,4	0,5
sito-e/sito-a	0,5	0,6	0,6	0,6	1,0	0,7	0,8	0,7	0,7	0,7	0,7	0,7	0,7	0,8	0,7
Média	0,7	0,7	0,6	0,6	0,3	0,6	0,5	0,5	0,5	0,5	0,4	0,4	0,4	0,6	0,5
DP	0,3	0,3	0,2	0,3	0,4	0,2	0,3	0,3	0,3	0,2	0,2	0,2	0,2	0,3	0,2

TABELA 9bS – VALORES DAS RAZÕES ENTRE OS ESTERÓIS BIOGÊNICOS INSATURADOS E SATURADOS E ORIGEM DOS ESTERÓIS C₂₇ A C₂₉, MÉDIA E DESVIO PADRÃO (DP) AO LONGO DAS SEÇÕES 15-16 A 31-32 (EM CM) TESTEMUNHO DE FERRAZ.

Razão/Seção (cm)	15-16	16-17	17-18	19-20	20-21	21-22	22-23	23-24	24-25	25-26	26-27	27-28	28-29	29-30	31-32
dehidro-e/dehidro-a	0,8	0,8	0,6	1,0	0,4	0,8	0,6	0,8	0,7	0,6	0,6	0,8	0,8	0,9	0,8
col-e/col-a	0,3	0,2	0,1	0,3	0,1	0,2	0,2	0,3	0,4	0,2	0,1	0,4	0,3	0,2	0,5
bras-e/bras-a	1,0	0,9	2,3	0,6	0,7	0,7	0,4	0,8	0,6	0,7	0,8	0,7	0,9	0,9	0,7

camp-e/camp-a	0,2	0,3	0,1	0,1	0,1	0,3	0,3	0,3	0,1	0,1	0,2	0,3	0,5	0,2	0,3
estig-e/estig-a	0,6	1,9	1,5	1,7	3,3	2,7	2,4	1,6	0,7	1,5	1,0	0,5	0,9	1,7	0,9
sito-e/sito-a	0,8	0,9	0,9	1,0	1,1	1,1	1,0	0,9	1,0	1,0	0,8	0,8	0,9	0,8	0,8
Média	0,6	0,8	0,9	0,8	1,0	1,0	0,8	0,8	0,6	0,7	0,6	0,6	0,7	0,8	0,7
DP	0,3	0,6	0,8	0,5	1,1	0,8	0,8	0,4	0,3	0,5	0,3	0,2	0,2	0,5	0,2